

# **UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

## ***Escuela Politécnica Superior***



### ***Tesis Doctoral***

***“Optimización de un algoritmo para la estimación de  
indicadores de calidad en el medio hídrico y la  
aplicación al sistema de medidas y comunicaciones  
asociado”***

**Autor:**

**Pablo Luis López Espí**

**Directores:**

**Dr. D. Francisco López Ferreras**

**Dra. D<sup>a</sup>. Irene de Bustamante Gutiérrez**

**Curso 2007/08**

D. Pablo Luis López Espí ha realizado en el Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones bajo la dirección de los doctores D. Francisco López Ferreras y D<sup>a</sup>. Irene de Bustamante Gutiérrez, la tesis doctoral titulada **“Optimización de un algoritmo para la estimación de indicadores de calidad en el medio hídrico y la aplicación al sistema de medidas y comunicaciones asociado”**, cumpliéndose todos los requisitos para la tramitación que conduce a su posterior defensa.

Alcalá de Henares, 3 de junio de 2008

EL DIRECTOR DE DEPARTAMENTO

Fdo.: Dr. D. Manuel Rosa Zurera

D. FRANCISCO LÓPEZ FERRERAS, Catedrático de Escuela Universitaria del área de conocimiento de Teoría de la Señal y Comunicaciones de la Universidad de Alcalá y

D<sup>a</sup>. IRENE DE BUSTAMANTE GUTIÉRREZ, Profesora Titular de Universidad del área de conocimiento de Geodinámica Externa de la Universidad de Alcalá,

#### CERTIFICAN

Que la tesis “**Optimización de un algoritmo para la estimación de indicadores de calidad en el medio hídrico y la aplicación al sistema de medidas y comunicaciones asociado**”, presentada por D. Pablo Luis López Espí, realizada en el Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones bajo nuestra dirección, reúne los méritos suficientes para optar al grado de Doctor, por lo que puede procederse a su lectura.

Alcalá de Henares, 3 de junio de 2008

Fdo.: Dr. D. Francisco López Ferreras

Fdo.: Dra. D<sup>a</sup>. Irene de Bustamante Gutiérrez



## ÍNDICE

1	Introducción.....	1
1.1	Presentación y contexto.....	1
1.2	Estructura de la memoria.....	11
1.3	Objetivos de la investigación y metodología.....	14
1.4	Summary.....	16
2	Revisión de Conocimientos.....	21
2.1	El nitrógeno y su influencia.....	21
2.1.1	Orígenes de la contaminación por nitratos.....	24
2.1.2	Efectos sobre la salud.....	29
2.1.3	Métodos de eliminación más habituales.....	31
2.2	Propiedades ópticas del agua.....	35
2.2.1	Propiedades ópticas inherentes.....	36
2.2.2	Propiedades electromagnéticas.....	39
2.2.3	Propagación de la luz en el agua.....	41
2.3	Medida de la concentración de nitrato.....	46

2.3.1	Cromatografía iónica.....	46
2.3.2	Colorimetría.....	47
2.3.3	Electrodos selectivos.....	48
2.3.4	Espectrometría.....	48
2.3.5	Métodos de medida.....	51
2.3.6	Materia orgánica.....	55
2.3.7	Influencia de la dispersion.....	57
2.4	Condiciones del sistema de medida.....	60
3	Materiales y métodos.....	69
3.1	Material empleado.....	69
3.1.1	Fuentes de luz.....	72
3.1.2	Espectrofotómetro.....	76
3.1.3	Fibra óptica y soporte de cubetas.....	78
3.2	Computación evolutiva.....	83
3.2.1	Características fundamentales de un algoritmo evolutivo.....	85
3.2.2	Implementación de la programación evolutiva.....	90

4	Desarrollo de la investigación y resultados.....	93
4.1	Respuesta espectral de la concentración de nitrato y nitrito en agua.....	93
4.1.1	Análisis de la concentración de nitrato.....	93
4.1.2	Análisis de la concentración de nitrito .....	105
4.2	Modelado de la transmitancia.....	112
4.3	Estimación de la concentración mediante programación evolutiva.....	120
4.3.1	Estimación de la concentración de nitrato.....	125
4.3.2	Estimación de múltiples contaminantes.....	131
4.4	Medida in situ de la concentración.....	136
4.4.1	Prototipo diseñado.....	140
5	Conclusiones y futuras líneas de investigación.....	151
5.1	Conclusiones generales.....	151
5.2	Aportaciones originales de la tesis doctoral .....	153
5.3	Futuras líneas de investigación.....	154
6	Resultados de la investigación.....	155
6.1	Patentes.....	155

6.2	Comunicaciones .....	155
6.3	Participación en proyectos de I+D .....	158
7	Referencias .....	161



## ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1-1. Vista del filtro verde de reduña.....	6
Figura 2-1. Ciclo del nitrógeno [31].....	22
Figura 2-2. Definición de las POI.....	37
Figura 2-3. Esquema general del entorno de medida. ....	43
Figura 2-4. Espectros ideales de señal transmitida y recibida.....	45
Figura 2-5. Esquema del sistema de medida .....	60
Figura 2-6. Acoplamiento de potencia entre fibras. ....	62
Figura 3-1 Montaje de medida .....	69
Figura 3-2 Espectrómetro óptico y fuente de luz UV.....	71
Figura 3-3 Espectro de lámpara halógena .....	73
Figura 3-4 Espectro de lámpara deuterio.....	74
Figura 3-5 Espectro conjunto de las lámparas de halógeno y de deuterio. ....	75
Figura 3-6 Transmitancia en condiciones de iluminación y oscuridad. ....	78
Figura 3-7 Transmitancia en los latiguillos de fibra óptica. ....	80
Figura 3-8 Soporte de cubetas con fibras conectadas.....	81

Figura 3-9 Transmitancia de latiguillos, soporte y cubeta de cuarzo.....	81
Figura 3-10. Pasos del algoritmo de programación evolutiva.....	92
Figura 4-1 Espectro de distintas concentraciones de nitratos.....	94
Figura 4-2 Detalle de la respuesta espectral de la Figura 4-1.....	95
Figura 4-3 Transmitancia en función del nivel de concentración de nitrato .....	96
Figura 4-4. Variación logarítmica de transmitancia con la concentración de nitrato...	98
Figura 4-5. Variación de la transmitancia con la concentración de nitrato medida a distintas longitudes de onda.....	100
Figura 4-6 Aproximación polinómica de la transmitancia.....	101
Figura 4-7. Longitud de onda de máxima absorción en función de la concentración de nitrato.....	102
Figura 4-8. Variación de la transmitancia a la longitud de onda de absorción máxima con la concentración de nitrato.....	104
Figura 4-9. Espectro de distintas concentraciones de nitrito (NO <sub>2</sub> ) .....	106
Figura 4-10. Detalle de la respuesta espectral de la Figura 4-9.....	107
Figura 4-11. Variación de la transmitancia con la concentracion de nitrito medida a la longitud de onda de máxima absorción.....	109

Figura 4-12. Variación de la longitud de onda de absorción máxima con la concentración de nitrito. ....	110
Figura 4-13. Comparación de las funciones de Fermi y Gaussiana. ....	114
Figura 4-14. Modelado del patrón de nitrito de 100 ppm.....	115
Figura 4-15. Simulación de respuestas de concentraciones de nitrito.....	116
Figura 4-16. Simulación de respuestas de concentraciones de nitrato .....	117
Figura 4-17. Comparación de respuestas de nitrato y nitrito.....	118
Figura 4-18 Espectro de agua procedente de Redueña.....	122
Figura 4-19. Modelado de una muestra de agua procedente de redueña.....	123
Figura 4-20. Detalle de patrones disponibles (desde 1 a 34 ppm).....	126
Figura 4-21. Detalle de patrones disponibles (desde 36 a 100 ppm).....	127
Figura 4-22. Evolución de la variable “a” .....	129
Figura 4-23. Evolución de la variable “b”.....	130
Figura 4-24. Comparación del patrón de 14 ppm adaptado y la muestra de agua depurada .....	131
Figura 4-25 Varilla de acero inoxidable para posicionar las fibras.....	137

Figura 4-26 Espectro recibido a través de la varilla de acero inoxidable.....	137
Figura 4-27 Transmitancia empleando la varilla de acero inoxidable.....	138
Figura 4-28. Adaptador y conectores SMA.....	139
Figura 4-29 Transmitancia empleando el adaptador SMA.....	139
Figura 4-30. Fotografía del prototipo diseñado .....	140
Figura 4-31. Lente convergente.....	142
Figura 4-32. Prisma .....	143
Figura 4-33. Disposición de los elementos ópticos .....	144
Figura 4-34. Fotografía de los elementos ópticos y la tapa de apriete. ....	144
Figura 4-35. Soporte. Vista de planta y cortes .....	145
Figura 4-36. Soporte. Vista lateral y corte .....	146
Figura 4-37. Transmitancia del prototipo con respecto al soporte de cubetas .....	147





## **1 INTRODUCCIÓN.**

### **1.1 Presentación y contexto.**

---

Esta tesis doctoral comprende las investigaciones llevadas a cabo para el diseño de un prototipo de sistema de medida *in situ* de concentración de nitratos en agua. El sistema propuesto está basado en el análisis mediante técnicas espectrofotométricas de la respuesta espectral en el ultravioleta y su posterior tratamiento mediante técnicas de programación evolutiva. La aplicación principal del sistema diseñado se encuentra en el seguimiento y control de la contaminación del agua por nitratos. Esta contaminación representa un problema de importantes proporciones debido al deterioro cada vez más acusado del medio acuático, a causa, principalmente, del excesivo aporte de fertilizantes en la agricultura.

En este entorno, en el año 1991, se aprueban las Directivas 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo [1] y 91/676/CEE de 12 de diciembre [2], esta última relativa a la protección de las aguas contra la contaminación por nitratos utilizados en la agricultura. En ella se establece como criterio de afección para las aguas subterráneas, concentraciones mayores de 50 mg/l de nitratos y como medida obligatoria, no aplicar más de 170 kg de nitrógeno por hectárea y año.

Estas directivas se transponen a la reglamentación española en numerosos reales decretos: Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre [3] desarrollado por el Real

Decreto 509/1996 [4] , en el Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero [5], y en el Real Decreto 2116/1998 [6] y en las comunidades autónomas en numerosos decretos, órdenes y resoluciones que establecen la declaración de zonas vulnerables a la contaminación, las aplicaciones de programas de actuación, prevención y corrección, y la aprobación de Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas.

La Directiva 2000/60/UE [7] (igualmente transpuesta a la legislación española por Leyes [8] y Reales Decretos [9;10]), por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas, en sus objetivos promueve el uso sostenible del agua basado en la protección a largo plazo de los recursos hídricos disponibles y la reducción de la contaminación de las aguas subterráneas.

En el artículo 4, dentro de los objetivos medioambientales, establece la limitación de entradas contaminantes en las aguas subterráneas así como la protección, mejora y regeneración de las mismas, garantizando el equilibrio entre las extracciones y la alimentación; y en el artículo 11, las medidas de control de la recarga artificial y la prohibición de vertidos directos.

Recientemente, El Parlamento Europeo y el Consejo han promulgado la directiva 2006/118/CE [11], específica sobre la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro que viene a abundar en lo establecido en la Directiva 2000/60/UE. También en fecha reciente se ha publicado en el B. O. E. el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas [12].



La Directiva 2006/118/CE comienza considerando las aguas subterráneas como un recurso natural valioso a proteger de la contaminación química y el deterioro, y las cataloga como el recurso hídrico más sensible e importante de la Unión Europea y como la fuente principal del suministro público de agua potable. Para proteger el medio ambiente en su conjunto y la salud humana en particular, según la directiva, es necesario evitar, prevenir o reducir la concentración perjudicial de contaminantes nocivos en el agua subterránea. En las consideraciones, igualmente se indica que *“se deben llevar a cabo investigaciones con el fin de obtener mejores criterios relativos a la calidad y a la protección del ecosistema de las aguas subterráneas... Deben alentarse y financiarse dichas investigaciones, así como la divulgación del conocimiento, experiencia y resultados de la investigación”*.

Dentro de las estrategias para la prevención y control de la contaminación de las aguas subterráneas, la directiva 2000/60/CE (artículo 17) propone la adopción de las medidas relativas a la contaminación de las aguas subterráneas en lo referente al buen estado químico, el cual debe controlarse al menos con análisis de oxígeno disuelto, pH, conductividad, nitrato y amonio. La directiva 2006/118/CE reitera en su anexo I como norma de calidad de las aguas subterráneas el valor máximo de 50 mg/l de concentración de nitratos ya establecido en la directiva 2000/60/CE. En su anexo II establece las directrices para el establecimiento de valores umbral de otros contaminantes e indicadores de contaminación, citando una lista mínima en la que se encuentran: arsénico, cadmio, plomo, mercurio, amonio, cloruro, sulfato, sustancias sintéticas artificiales (tricloroetileno, tetracloroetileno) y conductividad. En el anexo III,

donde se trata la evaluación del estado químico de las aguas, establece la obligatoriedad de determinar el estado químico en todas las masas o grupos de masas de agua subterránea caracterizadas en riesgo.

Las directivas anteriores, por tanto, obligan al control de la calidad de las aguas subterráneas sobre la base de la medición de la concentración de contaminantes y de indicadores de la contaminación. El control de los valores de oxígeno disuelto, conductividad y pH es un problema ya resuelto. Sin embargo, la medida *in situ* de la concentración de nitrato es un problema a resolver en la actualidad.

En el año 2000 se comienza a trabajar conjuntamente entre investigadores de los departamentos de Geología, Química Analítica e Ingeniería Química y de Teoría de la Señal y Comunicaciones de la Universidad de Alcalá en un proyecto conjunto (formado por dos subproyectos) llamado “*Implantación y gestión de filtros verdes: una alternativa para la depuración y reutilización de aguas residuales (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña)*” (REN2000-0759-C02-01 y 02) [13;14].

Los filtros verdes son una técnica no convencional de depuración de agua residual a partir de su aplicación a una superficie de terreno cubierta por una plantación forestal. En los filtros verdes se instalan generalmente choperas en bancales que se riegan con el agua residual. Ésta, es evaporada parcialmente y el resto es captada por las raíces de los árboles y filtrada a través del suelo. La aplicación controlada de aguas residuales al terreno constituye una técnica de depuración no convencional que presenta numerosas

ventajas: depuración del efluente, producción maderera, reutilización del agua residual... además, no producen un impacto visual negativo.. Estas técnicas no convencionales han sido recomendadas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos como método para reciclar los nutrientes y la materia orgánica para así proteger las fuentes de agua dulce [15;16].

La depuración a través de filtros verdes, se produce mediante la acción conjunta del suelo, los microorganismos y las plantas. [17-19]. Los principales mecanismos de depuración que suceden en los filtros verdes son: eliminación de sólidos en suspensión por filtración, eliminación de materia orgánica por oxidación (microorganismos), eliminación de nitrógeno por nitrificación, desnitrificación y mineralización (véase capítulo 2.1), eliminación del fósforo por precipitación, eliminación de microorganismos patógenos por filtración, toxicidad, adsorción y acción depredadora, etc. Al tratarse de un cultivo obviamente no destinado al consumo humano y realizarse el riego mediante surcos, el agua puede aplicarse después de un simple tratamiento primario (fundamentalmente retirada de arenas y grasas) [17;18;20-22]. Todo esto reduce significativamente los costes asociados al mismo. En términos económicos, la aplicación de agua residual a los cultivos no destinados al consumo humano supone un beneficio en dos aspectos. El primero de ellos es debido al ahorro que supone eliminar los costes del tratamiento convencional, especialmente caro en los casos de eliminación de fósforo y nitrógeno. El segundo de los aspectos estriba en el propio beneficio añadido que se obtiene de los cultivos regados [23-25].



FIGURA 1-1. VISTA DEL FILTRO VERDE DE REDUEÑA.

Para aplicar eficientemente el agua residual y prevenir la filtración de nitrógeno por debajo de la zona de las raíces hacia el acuífero debe elaborarse un calendario de riegos que determine cuándo y qué cantidad de agua ha de aportarse [15;15;26]. En régimen de funcionamiento normal, en la literatura se refiere un a reducción de entre el 75 y el 95% para el nitrógeno y el fósforo [16;17]. Sin embargo, en el filtro verde de Redueña, los datos obtenidos han demostrado un rendimiento menor, obteniéndose reducciones en la concentración de nitrógeno del 70 % y del 80% en el caso del fósforo [27]. En cualquier caso habrá que evitar la contaminación de las aguas subterráneas, lo que se consigue realizando un seguimiento en tiempo real de la calidad y cantidad del agua infiltrada, que permita actuar de manera inmediata sobre el caudal de riego. La medida

de este parámetro se ha realizado tradicionalmente mediante muestreo y análisis posterior en laboratorio; sin embargo, esto resulta inadecuado para su control por lo que la investigación se ha centrado en la realización de un prototipo para la medida *in situ* de la concentración de nitrato. La actuación debía dirigirse a establecer sobre el terreno un conjunto de sensores que permitieran disponer de datos relativos a las diferentes variables de entrada y salida. Estos sensores han de permitir controlar la cantidad y el nivel de contaminantes del agua residual que se pretende aportar, así como la calidad del agua infiltrada en el acuífero, *in situ* y de manera continua. Para el control del caudal aportado se ha patentado un sistema propio que también se ha implantado en el Filtro Verde de Redueña [28;29].

El objetivo fundamental del mencionado proyecto conjunto (REN2000-0759-C02-01 y 02) [13;14] fue la elaboración de una metodología para la implantación de filtros verdes, que incluía la caracterización geológica, hidrológica y edafológica de la zona de implantación y la gestión computerizada de las variables de entrada principales del filtro, su evolución y los factores ambientales consecuentes. En esta línea se siguió trabajando al amparo de otros dos proyectos: el primero de ellos gracias a la financiación de la Fundación La Caixa “*Aplicación de nuevas tecnologías de la información y comunicaciones en la implantación y gestión de Filtros Verdes (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña)*” [30] y el segundo de la Comunidad de Madrid “*Filtros verdes: diseño de sensores para la monitorización in situ de parámetros de control contaminantes*”[31].

En el desarrollo de estos proyectos se pone de manifiesto la importancia de la interdisciplinariedad del equipo, así como las dificultades de comunicación entre investigadores de diferentes áreas de conocimiento que tratan de confluir en un proyecto común. Entre las conclusiones del informe del proyecto REN2000-0759-C02-01 y 02 [13;14] se cita como un resultado no previsto inicialmente lo siguiente: *“Siguiendo las directrices de la UE en lo que respecta a la directiva 91/676/CE, se planteó la posibilidad de controlar la afección producida por nitratos a las aguas subterráneas. De ahí surgió el planteamiento de medir en continuo este parámetro para poder realizar un programa de autogestión de riegos que fuera capaz de cortar el riego de una zona y traspasarlo a otra cuando el agua residual a aplicar no fuera apta para la recarga, o se determinara que la cantidad de lixiviados con concentraciones altas en nitratos no eran las apropiadas para producirla.”*

Esta idea es el germen de otros proyectos que continúan las investigaciones iniciadas. El primero de ellos, REN2003-01248/HID, lleva por título *“Desarrollo de instrumentación y sistemas para el seguimiento y control remotos de la calidad de las aguas subterráneas: aplicación en la depuración y reutilización de aguas residuales mediante filtros verdes”* [32], declara como objetivo *“En este proyecto se plantea el diseño e implementación de equipos de campo para telemetría en continuo de parámetros analíticos del agua, como herramientas para la optimización y gestión de los recursos hídricos y su aplicación en el control de la calidad de las aguas subterráneas en todos sus aspectos. El inicio del desarrollo se va a centrar en un analizador de nitratos.”*

*En una primera fase, estos equipos se van a utilizar en el control de la calidad de aguas reutilizadas que previamente han sufrido un proceso de depuración mediante filtros verdes, ya que fue a partir de estas investigaciones (REN2000-0759-C02-01 y 02) cuando se vio la necesidad de disponer de medidas en continuo de nitratos para poder establecer un calendario de riego autogestionable, que permitiera realizar o no la recarga del acuífero, siempre y cuando se pudiera garantizar la calidad".* El segundo de los proyectos, CAM-UAH 2005/025, se titula *"Control de la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos: Desarrollo de un prototipo de sonda con métodos ópticos para su determinación en continuo."* [33]. En este proyecto ya se indican las técnicas espectrofotométricas como forma de medida a emplear para determinar la contaminación por nitratos, y el objetivo de desarrollar un prototipo para la medida de aguas subterráneas.

En la actualidad, el equipo investigador está presente en el proyecto *"Tratamiento y Reutilización de Aguas Residuales para una Gestión Sostenible"* CONSOLIDER CE-CSD-2006-00044 [34] junto con otros 23 grupos de investigación de diferentes disciplinas hasta el año 2011 y en el proyecto *"Regeneración de aguas mediante técnicas pasivas in situ: reutilización para riego y recarga"* CGL2007-65712-C03-01/HID. [35]

Estos proyectos, en general, abundan en el empleo de los Filtros Verdes como forma de reutilización de agua residual urbana donde el equipo investigador ya poseía una experiencia probada. Sin embargo, la contaminación por nitratos no es algo propio de

estas técnicas de depuración, sino que supone un problema de dimensiones globales que afecta a gran parte del planeta. Estos proyectos han puesto de manifiesto las dificultades existentes para el seguimiento en continuo de los parámetros de calidad (nitratos) especificados por las directivas. Para poder seguir las evoluciones de este contaminante se plantearon inicialmente los trabajos de esta tesis con el objetivo del diseño de una sonda que permita determinar, *in situ*, la concentración de nitratos mediante técnicas espectrofotométricas.



## **1.2 Estructura de la memoria.**

---

Sin duda una de las mayores dificultades iniciales, como ya se ha indicado, fue de comunicación entre los investigadores, cada uno de ellos con un bagaje de conocimientos propios y de desconocimientos ajenos. Antes de plasmar cualquier tipo de colaboración fue necesario el establecimiento de un lenguaje común que permitiera el conocimiento mutuo de las habilidades, capacidades, limitaciones y necesidades de cada uno. De esta experiencia de la interdisciplinariedad surge la estructura que se ha planteado en esta tesis.

En primer lugar se ha realizado una presentación que explica los orígenes de la investigación, partiendo desde la justificación de la legislación que obliga al control de las aguas en la Unión Europea, y en el orden cronológico de los diferentes proyectos de investigación que han llevado al planteamiento de esta tesis y dentro de los cuales se han realizado los trabajos de la misma.

El siguiente bloque, dedicado a la revisión de conocimientos, intenta adicionalmente establecer un lenguaje hidrogeológico y tecnológico común. Se encuentra dividido en tres partes. La primera de ellas plantea el problema de la contaminación por nitrógeno en las aguas. La exposición parte del ciclo del nitrógeno en el agua para proseguir con los problemas de salud que su presencia en forma de diferentes iones acarrea y los métodos más habituales para su eliminación empleados en los procesos de depuración. La segunda parte se ocupa de las propiedades ópticas del agua. En ella se exponen

algunas definiciones y propiedades electromagnéticas simples, así como las ideas básicas de la propagación de la luz en el agua. Como unión de las dos partes anteriores se revisan los métodos de medida de concentración de nitrato en agua. Se incluye una reseña sobre algunos métodos de medida de nitrato y sobre los comienzos del empleo de la espectrofotometría en el ultravioleta para su análisis y las dificultades que presenta la presencia de otros compuestos que interfieren la medida. Por último se hace especial hincapié en los condicionantes que el sistema de medida ha de solucionar, especialmente el de la medida *in situ* de la concentración.

La tercera parte de la memoria se ocupa de la exposición de las características de los equipos y materiales empleados para la medida de la atenuación espectral de la luz, atendiendo a los condicionantes de partida del sistema de medida descrito en el capítulo anterior. También incluye el método utilizado para obtener el valor de la concentración de nitrato a partir de las medidas realizadas con el equipamiento descrito. Este método, basado en la utilización de algoritmos de programación evolutiva aplicados a la clasificación de patrones, se ha utilizado para determinar la concentración de nitratos a partir de la atenuación adicional, debida a la presencia de nitratos o nitritos, que sufre la luz (UV) cuando atraviesa un volumen de agua.

La cuarta parte está dedicada a los resultados de la investigación realizada y a las conclusiones de la misma. En ella se analiza la respuesta espectral de la concentración de nitrato y nitrito en agua y se caracteriza la variación de la absorción máxima y de la longitud de onda para la cual se produce. Otro aspecto que se aborda es el modelado de

dicha respuesta mediante funciones matemáticas. En este apartado se expone la aplicación de la programación evolutiva como método para determinar la concentración tanto de nitrato, como de otros contaminantes cuya respuesta sea sensible en el rango de longitudes de onda de la instrumentación disponible. Por último, para resolver el problema de la medida *in situ* de la concentración de nitrato y nitrito se ha realizado un prototipo en colaboración con el Centro de Investigaciones De la Armada (CIDA), cuyas características también se incorporan en este bloque, y que ha dado lugar a una patente.

Por último se repasan la producción científica más relevante a la que ha contribuido la realización de esta tesis doctoral y la bibliografía consultada.

### **1.3 Objetivos de la investigación y metodología.**

---

El objetivo fundamental de la investigación ha sido la realización de un sistema para la medida *in situ* y de manera continua de la contaminación por nitrógeno de la aguas.

La medida de la concentración de nitrógeno en el agua se ha realizado mediante técnicas de espectrofotometría en el ultravioleta. En primer lugar se ha estudiado la influencia sobre la transmisión de la luz que posee la concentración de nitrógeno en forma de ión nitrato y nitrito. Para ello se han realizado múltiples medidas de la transmitancia espectral sobre agua destilada a la que se ha añadido cantidades conocidas de dichos iones, dando lugar a una familia de patrones de respuesta. Del estudio de estos patrones se han obtenido las relaciones entre la concentración, la transmitancia a diversas longitudes de onda y la longitud de onda para la que se produce la máxima absorción de energía. Posteriormente se han modelado estos patrones mediante funciones Gaussianas y de Fermi.

Sin embargo, en las muestras de aguas naturales existen otras sustancias que provocan interferencias sobre la transmitancia espectral, especialmente la materia orgánica. Esto hace inviable la obtención de la concentración a partir de la transmitancia medida a uno o dos valores de longitud de onda. Se ha recurrido a la programación evolutiva como método para seleccionar el patrón que mejor se ajusta a la transmitancia de la muestra.

Además, aplicando las relaciones matemáticas obtenidas en el estudio de la transmitancia, se ha propuesto un algoritmo para la estimación simultánea de múltiples contaminantes a partir de la formulación matemática obtenida anteriormente o en combinación con los patrones de medida disponibles.

Por último, para resolver el problema de la medida *in situ*, en colaboración con el Centro de Investigaciones de la Armada, se ha desarrollado un prototipo sumergible que permite la medida *in situ* de la transmitancia en el rango de longitudes de onda de interés.

En resumen, esta tesis propone un conjunto de dispositivos y algoritmos que permiten la medida de la concentración de nitrato mediante técnicas de medida espectrofotométricas en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y su posterior análisis mediante algoritmos que emplean programación evolutiva.

## 1.4 Summary

---

This thesis comprises the development of a prototype for continuous and online nitrate concentration measurement in water. The proposed system is based on ultraviolet spectrophotometric techniques and the later measures analysis using evolutionary programming.

The main application of the proposed system is monitoring nitrate pollution in water. This pollution is a major worldwide problem due mainly to excessive fertilizers used in agriculture. In the European Union, since 1991, Directives 91/271/CEE and 91/676/CEE are aware of this problem. More recently, the Directive 2006/118/CE, has been delivered to specially protect groundwater.

Directive 2006/118/CE considers groundwater as a valuable resource to be preserved from chemical pollution and states it as the most sensitive and important drinking water resource in UE. In order to protect the environment and human health, it is necessary to avoid, prevent and reduce the concentration of pollutants in groundwater. The directive encourages the investigations to obtain new criteria about quality and protection of groundwater... this research should be supported as well as the knowledge, experience and results publications in this area.

The above mentioned Directives establish a mandatory monitoring of groundwater quality on the basis of pollutant measurement. The control of dissolved oxygen,

conductivity and pH is usually made, but the continuous on line measurement of nitrate concentration is a problem to be solved.

In 2000, the joint works of departments of Geología, Química Analítica e Ingeniería Química y de Teoría de la Señal y Comunicaciones of Universidad de Alcalá began in a project named *“Implantación y gestión de filtros verdes: una alternativa para la depuración y reutilización de aguas residuales (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña)”*. As a new result, in the report of this Project is stated: “following the directive 91/271/CE, the possibility of continuous nitrate pollution measurement in groundwater is considered. The aim is to create a self control irrigation program able to redistribute wastewater in a land application when this water will not be suitable to produce recharge or when nitrate concentration in lixivate will not be adequate”.

So, the main objective in this research has been the creation of a system for continuous and on line measurement of nitrate pollution in water. The measurement of nitrogen in water has been done by using spectrophotometric techniques in ultraviolet wavelengths. First, the influence on light transmission due to nitrate and nitrite ions has been studied. Multiple transmittance measurements have been done using distillate water with known ion concentrations to obtain a variety of responses or patterns. From the study of these patterns, the relations between concentration, transmittance and wavelength have been obtained. Later, the responses have been modelled using Fermi and Gaussian functions.

But in natural waters, there is a variety of substances apart from nitrogen, whose influence in transmittance is noticed also in ultraviolet wavelengths, especially organic matter. Also turbidity is another source of transmittance variation. Evolutionary programming has been proposed as a selection method of the best adjusting pattern and an algorithm has been stated for simultaneous measurement of multiple pollutants.

Finally, the problem of on line measurement has been solved. In cooperation with Centro de Investigaciones de la Armada, a waterproof prototype has been designed for on line measurement.

As a general conclusion, this thesis proposes some devices and algorithms to measure nitrate concentration in water using ultraviolet spectral measurement techniques and evolutionary programming analysis.

The following are other conclusions that can also be delivered. Ultraviolet techniques are useful for direct on line measurement of nitrate and nitrite concentrations. As Beer-Lambert law states, transmittance is proportional to logarithm of concentration, but only in a reduced range. The measurements show, that non linearity effects are significant from 50 mg/l and on. The measurements also show that the maximum absorption wavelength varies with concentration. This variation has also been related to logarithm of concentration. The study of the spectral response shows a Fermi and Gaussian variation of transmittance with wavelength. Fermi function states under maximum absorption wavelength and Gaussian function over that value.



Due to other substances interference in ultraviolet, the methods based on one or two wavelengths measurements are not suitable for direct concentration measurement. Multiple wavelengths are more appropriate because they take into account background absorption produced by organic matter and turbidity effects.

In spite of other researches proposals about transmittance in a particular site, it is more adequate to allow a simultaneous fitting during spectral deconvolution. Evolutionary programming has been proved as a very useful technique, allowing simultaneous fitting of multiple substances and background absorption. The purposed transmittance modelling has been used to state an estimation method for multiple pollutants based on a combination of experimental and synthetic patterns.

The performance of the whole system is limited by transmission losses in optical fiber as well as by their coupling efficiency. In order to optimize it, the final device must integrate optical source and spectrophotometer. The designed prototype has proven its better efficiency compared to traditional tray, but the lenses should be adjusted.

Finally, regarding measurement variability and its temporal deviation, the measurements show a good response but it is necessary to introduce some kind of compensation for source emission temporal variation.

The main contributions of this thesis are:

- A mathematical model for nitrate and nitrite transmittance has been proposed using Fermi and Gaussian functions. This allows the whole spectral characterization from the single concentration value.
- A method for estimating multiple pollutant concentration has been proposed using evolutionary programming techniques by combining a second order polynomial for background absorption and a measured or mathematically created set of patterns.
- A prototype for an on line system using direct ultraviolet measurements has been created and patented.

## 2 REVISIÓN DE CONOCIMIENTOS.

### 2.1 El nitrógeno y su influencia.

El nitrógeno, junto con el oxígeno, el hidrógeno y el carbono, son elementos esenciales para la vida, ya que forman parte de los aminoácidos que son los promotores de las proteínas tanto vegetales como animales. Está presente en determinadas reacciones químicas e intercambios entre la atmósfera, suelos y seres vivos, que se realizan en la naturaleza de forma cíclica. En este proceso intervienen fundamentalmente los vegetales y las bacterias fijadoras de nitrógeno [36].

Los compuestos más habituales de nitrógeno son en forma de nitrógeno orgánico, amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) o amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^+$ ). En la mayoría de los suelos, el 95% del nitrógeno que existe está en forma de nitrógeno orgánico, y solo el 5% se encuentra en forma de nitrógeno mineral. Dentro de la gama del nitrógeno orgánico se encuentran las proteínas, los ácidos nucleicos y aminoazúcares. El nitrógeno orgánico agrupa tanto formas fácilmente degradables como formas de difícil degradación. El nitrógeno inorgánico en el suelo suele encontrarse en forma de ión amonio, bien en solución o bien absorbido en la fase coloidal. También puede aparecer en forma de ión nitrato. Este último es un ión muy móvil que pasa por lavado a las aguas subterráneas. Los nitratos y nitritos se encuentran generalmente como formas de libre difusión, mientras que el amonio puede encontrarse en forma intercambiable o no

intercambiable. El nitrógeno en el suelo sufre una serie de transformaciones conocidas como ciclo del nitrógeno. La incorporación del nitrógeno al suelo puede esquematizarse como muestra la Figura 2-1 [37].

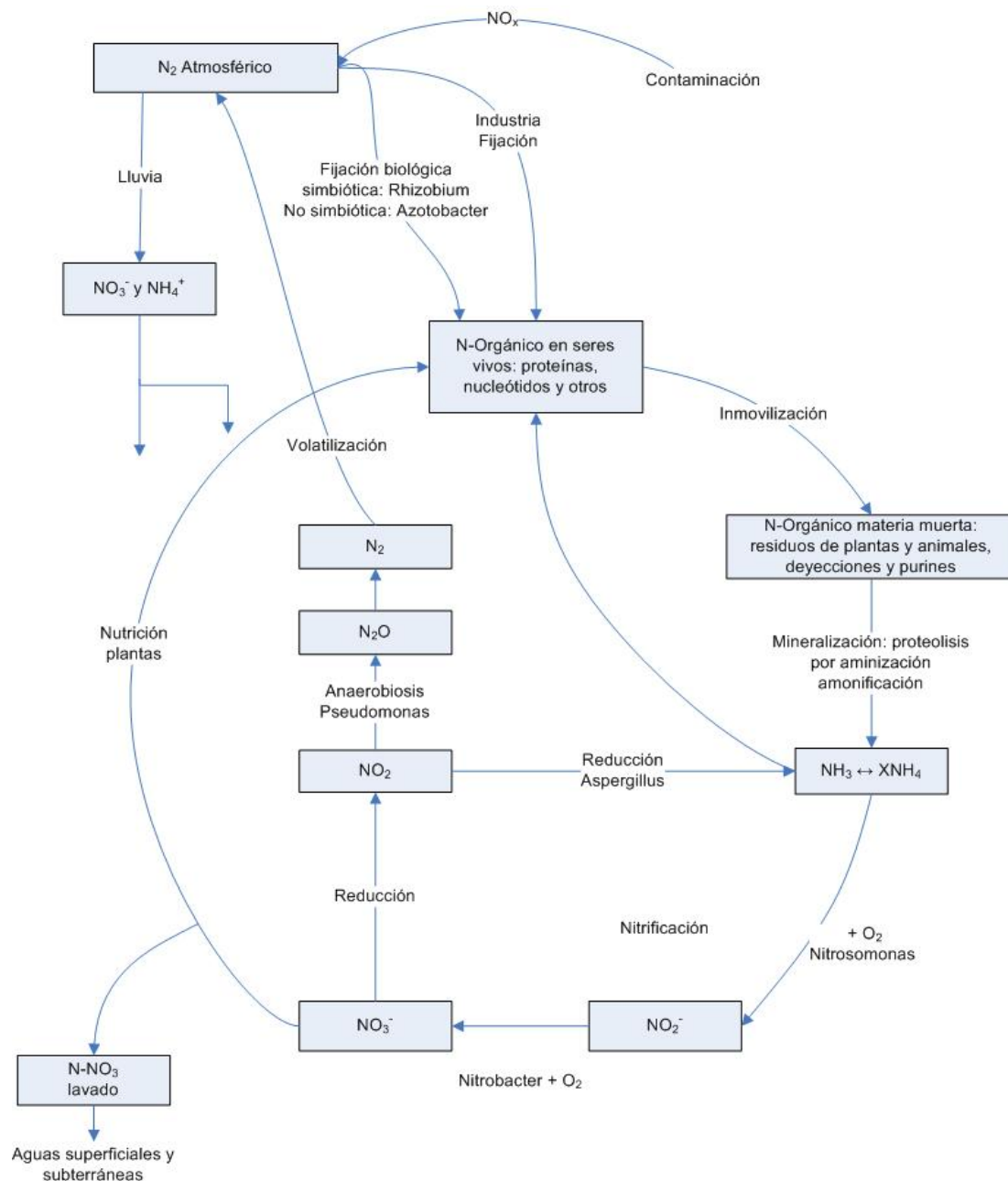


FIGURA 2-1. CICLO DEL NITRÓGENO [37].

Los procesos indicados en la Figura 2-1 representan el ciclo del nitrógeno a través de sus diferentes transformaciones. Si bien la reserva fundamental de nitrógeno se encuentra en la atmósfera en forma de  $N_2$ , los organismos vivos, exceptuando algunas bacterias y algas cianofíceas [38], no pueden utilizarlo directamente en forma gaseosa [39], por lo que debe ser transformado previamente en nitrógeno inorgánico. Esto se consigue, fundamentalmente, mediante la fijación del nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) que se produce mediante la incorporación al suelo a través de la lluvia y la intervención de bacterias simbióticas que viven en las raíces de las plantas (especialmente *Rhizobium*) y bacterias no simbióticas (*Azotobacter*). También se incorpora al suelo mediante procesos industriales tales como la fabricación de fertilizantes [37].

La inmovilización del nitrógeno consiste en su estabilización en el suelo en forma de nitrógeno orgánico mediante la actividad microbiana. La mineralización es el paso de nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico por hidrólisis.

Se conoce como nitrificación el proceso de generación de nitrato. Este es un proceso por oxidación enzimática que tiene lugar en dos etapas. En la primera se produce nitrito mediante bacterias autotróficas aerobias (que utilizan oxígeno libre) de tipo *Nitrosomonas* o *Nitrosolubus*. A partir del nitrito se producen nitratos mediante otras bacterias aerobias de tipo *Nitrobacter*. Este proceso es importante en el ciclo del nitrógeno ya que las plantas solo asimilan el nitrógeno cuando se encuentra en forma de nitrato.

Los nitratos pueden volver a la atmósfera en forma de  $N_2$  mediante la desnitrificación o ser lavados hacia ríos, lagos o aguas subterráneas [36]. La desnitrificación se produce en condiciones anaerobias, por la acción de determinadas bacterias o en el medio acuático, cuando existe un exceso de materia orgánica, convirtiendo los compuestos de nitrógeno para formar  $N_2$  [39]. El lavado consiste en la transferencia del nitrato no absorbido por las plantas o adsorbido por las arcillas o por la materia orgánica al agua subterránea [37].

### **2.1.1 Orígenes de la contaminación por nitratos.**

El nitrato se encuentra de manera natural, en concentraciones moderadas, en muchos ecosistemas acuáticos. A menudo, estas concentraciones se ven incrementadas por actividades humanas que implican a compuestos nitrogenados [40]. A pesar de los esfuerzos para reducir los aportes de nitrógeno al agua subterránea, el nitrato sigue siendo uno de los mayores contaminantes de los recursos de agua potable a nivel mundial [41] y si bien tiene una gran movilidad en el agua subterránea, no tiene tendencia a la adsorción o a precipitarse. Además, tampoco se elimina de manera sistemática en los sistemas de captación [42]. La presencia de nitrato en agua solo es detectable mediante la realización de análisis puesto que no provoca variaciones en el color, olor o sabor, por lo que limitar su presencia cobra una importancia aún mayor como medida de protección de la salud [43].

El nitrato es el contaminante más habitual en los acuíferos poco profundos debido tanto a fuentes puntuales como no puntuales o difusas de contaminación. Las prácticas

agrícolas son una fuente no puntual de contaminación, debido a las cuales la calidad del agua subterránea puede reducirse durante un largo periodo de tiempo por su efecto acumulativo. La fuente difusa más común es el aporte de fertilizantes. Fuentes puntuales de la entrada de nitrógeno en los acuíferos son las fosas sépticas [44], los vertidos urbanos e industriales [42] y la ganadería estabulada [43;45].

La directiva 91/676 [2] exige a los estados miembros la designación de zonas vulnerables donde la contaminación por nitratos pudiera afectar a las aguas superficiales o subterráneas así como a la adopción de planes de actuación para limitar, en el tiempo y la cantidad, la aplicación de fertilizantes y almacenar convenientemente antes de su aplicación los abonos animales hasta reducir la cantidad total aportada a valores inferiores a 170 kg N/ha [46].

Los nitratos son compuestos altamente solubles, de fácil lixiviación, con alta movilidad en el medio, condicionada por las características litológicas del terreno y el aporte de agua por precipitaciones y riego [43].

La filtración a través del suelo es una causa potencial de eutrofización del agua superficial y de contaminación del agua subterránea [47]. La tasa de lixiviación de nitrógeno en el terreno va a depender del uso del suelo, la carga contaminante de nitrógeno aportada en la superficie, la velocidad de infiltración, la velocidad de los procesos de desnitrificación y de la carga hidráulica aplicada. En general, el filtrado aumenta en las zonas donde la recarga es alta debido a la gran movilidad del nitrato, por

lo que el aporte de nitrógeno en superficie debe controlarse en áreas donde existe una alta capacidad de recarga para minimizar la cantidad que pueda filtrarse [45].

Si en una zona se produce una precipitación elevada o un exceso de riego, el nitrato se infiltrará por debajo del nivel de las raíces de las plantas, pudiendo alcanzar eventualmente el acuífero [48]. La existencia de nitrato en el suelo por debajo de la zona de las raíces es un requisito previo para que pueda producirse su pérdida. Su existencia indica una pérdida de nutrientes en el ecosistema [47]. Díez *et al* (1997) indican que unas prácticas de riego adecuadas pueden reducir cuatro veces la pérdida de nitrógeno [49]. Las pérdidas de nitrógeno son más probables cuando el fertilizante contiene nitrato en lugar de nitrógeno amoniacal o cuando su aplicación es única en lugar de regular. Igualmente las fertilizaciones en otoño son más propensas a las pérdidas que las realizadas en primavera [48;50]. Frecuentemente se produce un aporte excesivo de fertilizantes lo que conduce a una baja eficiencia en el uso del nitrógeno y a la pérdida por filtración. Por ejemplo Hu *et al* (2005) en un trabajo realizado en China estiman la pérdida por filtración entre aproximadamente un 8 y un 28 % de las cantidades aplicadas, alcanzando el 35 % mediante el proceso de desnitrificación [51]. Los suelos arenosos o de textura gruesa son más vulnerables a la contaminación por nitrato que los suelos arcillosos. Las arcillas suelen retener los iones de amonio, además el movimiento del agua es muy lento a través de dichos suelos y favorecen la desnitrificación. La textura del suelo y la distancia entre la zona de las raíces y el acuífero también determinan la vulnerabilidad a la contaminación [48].



Diversos estudios han señalado las actividades agrícolas y ganaderas como la principal fuente de contaminación por nitrato en el agua subterránea. El exceso de nitratos en las aguas tiene, frecuentemente, relación con la aportación al suelo de residuos orgánicos de origen ganadero (purines, estiércoles y deyecciones directas) o la fertilización sintética nitrogenada (los nitratos de calcio, sodio y potasio y el amonio sintetizados industrialmente se emplean como fertilizantes de manera habitual) [41;43]). Callesen *et al* (1999) han analizado la concentración de nitrato en el suelo no cultivado en los bosques de Estados Unidos obteniéndose valores medios significativamente inferiores a los de las zonas cultivadas [47]. Widory *et al* (2004), en un estudio localizado en la Bretaña francesa, resaltan que se produce más contaminación cuando la fertilización tiene un origen animal [41].

En los últimos años, la demanda de agua a nivel mundial se ha incrementado y muchos países han de hacer frente a restricciones o a situaciones de escasez. Esta es una situación típica de la región mediterránea, entre otras, donde el agua residual ha sido utilizada como agua de riego desde hace siglos [52-54]. El uso controlado del agua residual para riego tiene una gran aplicación debido no solo al valor del agua sino además a otros beneficios socioeconómicos y medioambientales como pueden ser la reducción de la aportación de estos caudales a las masas de agua, la recuperación de nutrientes como fertilizantes que reduce el empleo de fertilizantes comerciales, las mejoras en la producción del cultivos al aprovecharse las temporadas secas y el ahorro al eliminar el tratamiento terciario en los procesos de depuración [54;55]. Como ejemplo, los siguientes valores medios de nutrientes se encontraron presentes en el agua

residual (valores en kg/persona·año): fósforo 0,26; nitrógeno 4,8-5,0; potasio 4,0 y carbono 42,0 [56]. Cuando se realiza un riego con aguas residuales urbanas, el nitrógeno de la biomasa que contienen en forma de proteínas, es hidrolizado formando los aminoácidos que, por acción de las bacterias, pasan a transformarse en amoníaco, luego en nitrito y por último en nitrato [43]. El estudio de la composición del agua aplicada, la litología, las características hidrogeológicas y los usos del suelo es un factor fundamental para determinar la calidad de la recarga del acuífero existente debajo de los cultivos [57;58].

El abandono del suelo después de su cultivo intensivo es otra causa de contaminación debida a la filtración del nitrato hasta el acuífero. El tratamiento con herbicidas, que elimina la vegetación que compite con los cultivos es otra causa que incrementa la concentración de nitrato en el suelo [59]. La gestión de un modo ambiental de los cultivos y usos del suelo, así como el mantenimiento de las zonas con vegetación y humedales, es fundamental para actuar sobre la concentración de nitrato [60-64].

El proceso de recuperación de una zona contaminada por nitratos puede ser extremadamente largo y su duración depende de múltiples factores [58]. Vinten y Dunn (2001), estiman que puede ser de hasta 150 años, dependiendo del uso del suelo, el tiempo para recuperar un acuífero en Escocia [61]. En Vitoria [62], se ha estudiado la reducción de concentraciones de 200 a 50-70 mg/l conseguida después de diez años mediante un cambio de prácticas de riego y fertilización.

### **2.1.2 Efectos sobre la salud**

El principal daño causado por la toma de agua contaminada con niveles elevados de nitrato es debido a la transformación de éste en nitrito en el sistema digestivo. El nitrito oxida el hierro de la hemoglobina de los glóbulos rojos o hematíes de la sangre para formar metahemoglobina, la cual inhibe la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre. Esta situación recibe el nombre de metahemoglobinemia o también “enfermedad del niño azul”, por ser los lactantes el grupo de población más susceptible y porque la falta de oxígeno provoca un color azulado en las venas y en la piel. La mayoría de las personas de más de un año poseen la capacidad de reconvertir rápidamente la metahemoglobina en hemoglobina revirtiendo el efecto nocivo del exceso de nitrato. En algunas personas adultas, debido a problemas genéticos que afectan a la producción de enzimas, no se produce la reconversión de la metahemoglobina [43].

La metahemoglobinemia se origina cuando el grado de oxidación del hierro contenido en el grupo hemo de la sangre supera los mecanismos compensadores de los hematíes, pasando al estado férrico (incapaz de transportar oxígeno y dióxido de carbono). Se produce, como se ha comentado, un aumento de la metahemoglobina, en lugar de la hemoglobina, que da lugar a cianosis, fallo de la oxigenación y acidosis metabólica [65].

La metahemoglobinemia adquirida (no la de origen congénito) es la producida por contacto o ingesta de agentes oxidantes exógenos tóxicos como, entre otros, compuestos nitrogenados de diferentes procedencias (agua potable, alimentos...). En este sentido, en

el año 1945, Hunter Comly propuso la teoría de que los nitratos existentes en el agua de consumo eran los causantes de la metahemoglobinemia infantil. Estudios adicionales apoyaron esta teoría demostrando una mayor incidencia de metahemoglobinemia en zonas con mayor contenido de nitratos en las aguas [65].

También se ha indicado el riesgo potencial de contraer cáncer por la presencia de nitrato y nitrito en el agua y en los alimentos, debido a la posible reacción de los mismos con las aminas y amidas para dar lugar a nitrosaminas [43].

En 1962, el Departamento de Salud Pública de los Estados Unidos estableció los límites de concentración en agua potable, recomendando un valor de 10 mg/l para el nitrato-N (nitrógeno en forma de nitrato) (44,43 mg/l de nitrato total). Este valor, basado en el conocimiento de la época, fue establecido para proteger la salud de los niños. El daño potencial para los adultos depende de la reacción de cada individuo al nitrato, así como de su ingesta total de nitrato y nitrito. La contaminación por nitrato, lejos de ser un problema local, afecta a un gran número de áreas repartidas por todo el planeta. Por ejemplo, en el periodo de 1970 a 1992, en Estados Unidos, se verificó que el 9% de los pozos privados superaba el límite establecido para el contenido de nitrato [43].

En el caso europeo, la concentración de nitrato en el agua subterránea, especialmente en las áreas agrícolas, ha experimentado un aumento importante en los últimos años debido, principalmente, al empleo de fertilizantes agrícolas. La situación particular en España, no es diferente de la del resto de la UE. En el “Estudio sobre la situación de la contaminación por nitratos en las aguas subterráneas del territorio y peninsular y balear”

del Servicio Geológico de la Dirección General de Obras Hidráulicas de 1988, ya se indica que *“la contaminación por nitratos de las aguas subterráneas afecta a extensas áreas de la geografía española. Con excepción de la cuenca Norte, en el resto de las regiones se han detectado acuíferos contaminados, con niveles que con frecuencia exceden de los 50 mg/l y, en algunos casos, alcanzan los 250 mg/l. Las comarcas donde se localizan las mayores concentraciones de nitratos en las aguas subterráneas coinciden frecuentemente con las zonas de agricultura intensiva, sometidas a la aplicación continuada de fertilizantes nitrogenados”*. En el ámbito de la Unión Europea la legislación establece un límite de 50 mg/l para el agua de consumo humano [2].

### **2.1.3 Métodos de eliminación más habituales.**

El nitrógeno en el agua está presente en forma de sales altamente solubles. Prácticas normales de tratamiento como sedimentación, filtración, clorado o ajuste de pH no afectan a la concentración de nitrato [48].

Para eliminar el nitrato del agua potable se utilizan fundamentalmente procesos físico-químicos (destilación, intercambio iónico, ósmosis inversa, electrodiálisis), procesos biológicos de desnitrificación, tratamientos químicos y catálisis. Los procesos biológicos y la catálisis son los únicos que eliminan el nitrógeno de una forma sostenible, no desplazando el problema mediante separación o concentración. Los procesos físico-químicos implican altos costes de inversión y de operación y requieren un post-tratamiento de los efluentes que contienen los nitratos concentrados [66].

La destilación es un proceso inviable económicamente debido a que consume ingentes cantidades de energía.

En el proceso de ósmosis inversa se consiguen reducciones del 65% en concentraciones de 80 a 110 mg/l. El principal inconveniente es el alto coste energético del proceso [67;68].

En el intercambio iónico se emplean resinas especiales que intercambian iones de cloro por iones de nitrato y sulfato a medida que el agua atraviesa la resina. Es un proceso estable, rápido y fácilmente automatizable y ofrece un gran potencial de utilización en plantas de pequeño y mediano tamaño. Tiene el inconveniente de los elevados costes y de los elementos residuales como cloruros y bicarbonatos que añade al agua. [43;67;69].

La electrodiálisis no requiere la adición de productos químicos y es relativamente sencilla de controlar. Se adapta bastante bien a las condiciones de carga variables y a los cambios de temperatura. Tiene una eficacia parecida a la ósmosis inversa, pero unos costes mucho más elevados [67;70].

Los procesos biológicos de desnitrificación son, en principio, efectivos en términos de costes. Consisten en la descomposición biológica del nitrato a gas nitrógeno por parte de los microorganismos. Pueden llegar a eliminar el 100% del nitrato pero el agua producida necesita un tratamiento posterior de desinfección debido a la presencia de restos de microorganismos y de compuestos orgánicos degradados. Este proceso es generalmente lento, limitado por el rango de temperaturas y de difícil mantenimiento, necesitando además la adición de nutrientes (por ejemplo etanol y fosfatos) [71-74].

Los tratamientos químicos con compuestos de hierro o aluminio consiguen una eficiencia entre el 70 y el 75%. Presentan el inconveniente de la gran cantidad de lodos que genera el proceso, lo que incrementa enormemente los costes finales. Además, este proceso genera amonio, el cual requiere un tratamiento posterior para su eliminación.

La catálisis es un proceso por el que el nitrato pasa a  $N_2$ . Es una solución que presenta varias ventajas: bajos costes de inversión y mantenimiento, no se requiere post-tratamiento, se garantiza con seguridad la calidad del agua tratada y el nitrato se elimina de forma rápida y selectiva [66;75-77]. Sin embargo, ésta técnica presenta el inconveniente de la dificultad de control del proceso de funcionamiento y de la producción de iones de nitrito y de amonio, de toxicidad aún superior a la del nitrato y con límites legales para consumo público establecidos en 0,1 y 0,5 mg/l respectivamente [72;78].

A nivel industrial, las técnicas más habituales de desnitrificación del agua (físico-químicas o biológicas) son relativamente costosas (según datos de 2006 del *Extensión Service* de la *West Virginia University* se estima en el equivalente a 70 €/m<sup>3</sup> [48]) y, en algunos casos, requieren de un post-tratamiento del efluente y de los lodos generados [78;79].

El presente capítulo ha puesto de manifiesto los orígenes y la importancia de la contaminación por nitratos así como las dificultades de su eliminación. Esto revela la necesidad de su control, disponiendo para ello de los sensores más adecuados. Para el diseño de los sensores que permitan conocer su concentración en tiempo real, en esta

tesis se ha elegido, como ya se ha mencionado, una tecnología basada en el análisis espectrofotométrico *in situ* del agua. Esta tecnología exige un conocimiento preciso de las propiedades ópticas del agua, como patrón primario de calibración, y de cómo dichas propiedades se ven afectadas por la presencia de contaminantes, en concreto nitratos y nitritos. En el próximo capítulo se realiza una revisión de estas propiedades.



## 2.2 Propiedades ópticas del agua

---

En este capítulo se describen las propiedades ópticas fundamentales del agua. Cabe distinguir por un lado las propiedades ópticas del agua destilada, y por otro las de las aguas naturales. Evidentemente estas últimas son una mezcla del agua destilada con diferentes compuestos en suspensión o disolución, que alteran significativamente sus propiedades ópticas. En general, debido a las variaciones de estos compuestos, las propiedades ópticas de las aguas naturales muestran grandes variaciones temporales y espaciales [80].

La óptica hidrológica es el estudio cuantitativo de las interacciones de la energía electromagnética con el agua (pura o natural). La teoría sobre el transporte radiativo es el marco que conecta las propiedades ópticas del agua con la luz. El análisis matemático riguroso de esta teoría aplicada a la óptica hidrológica fue desarrollado por Preisendorfer y otros a mediados del siglo XX. A partir de él se encontró conveniente dividir las propiedades ópticas del agua en dos clases: inherentes y aparentes. Las propiedades ópticas inherentes (POI) son aquellas que dependen tan solo del medio. Las dos POI más importantes son el coeficiente de absorción y la función de scattering por unidad de volumen. Otras son el coeficiente de atenuación y el albedo de scattering simple. Las propiedades ópticas aparentes (POA) son aquellas que dependen tanto del medio como de la dirección de la luz incidente, las cuales muestran suficiente estabilidad y regularidad como para ser utilizadas como descriptores de las propiedades

del agua. Algunas POA utilizadas son la reflectancia, los cosenos medios y algunas funciones de atenuación (funciones K). La ecuación del transporte radiativo proporciona la conexión entre las POI y las POA. Las POI son fácilmente definibles, pero pueden resultar extremadamente difíciles de medir, especialmente *in situ*. Las POA son generalmente más sencillas de medir, pero presentan la dificultad de su interpretación debido a los efectos ambientales presentes. Esta teoría asume que la radiación luminosa es monocromática. En este caso, las propiedades ópticas y las cantidades radiométricas descritas tienen un carácter espectral, denotándose su dependencia con la longitud de onda indicando entre paréntesis o como subíndice la letra griega lambda ( $\lambda$ ) [80].

### 2.2.1 Propiedades ópticas inherentes

Si se considera un pequeño volumen de agua  $\Delta V$ , de espesor  $\Delta r$ , iluminado por un haz incidente estrecho y colimado de luz monocromática, cuya densidad espectral de potencia es  $\Phi_i(\lambda)$  [W/nm] tal y como muestra la siguiente figura. Una parte de la densidad espectral incidente  $\Phi_i(\lambda)$  es absorbida en el volumen de agua, la cual denotaremos como  $\Phi_a(\lambda)$ . Otra parte, que denotaremos como  $\Phi_s(\psi, \lambda)$ , será dispersada con un ángulo  $\psi$  respecto a la dirección de la energía incidente. Denotaremos como  $\Phi_s(\lambda)$  a la densidad espectral de energía total dispersada. La energía restante, que llamaremos  $\Phi_t$ , es la que se transmite a través del volumen  $\Delta V$  sin sufrir cambios de dirección [80].

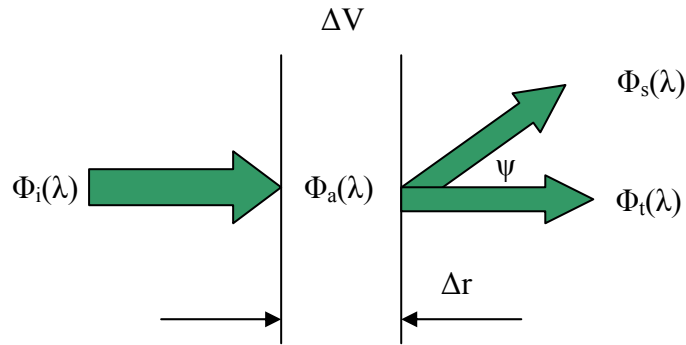


FIGURA 2-2. DEFINICIÓN DE LAS POI.

Atendiendo al teorema de conservación de la energía, se puede expresar lo siguiente:

$$\Phi_i(\lambda) = \Phi_a(\lambda) + \Phi_s(\lambda) + \Phi_t(\lambda) \quad \text{EC. 2-1}$$

La *absorción espectral* o *absorbancia espectral*,  $A(\lambda)$ , es la fracción de la potencia incidente que es absorbida en el volumen. Por tanto:

$$A(\lambda) = \frac{\Phi_a(\lambda)}{\Phi_i(\lambda)} \quad \text{EC. 2-2}$$

Del mismo modo, llamaremos *dispersión espectral*,  $B(\lambda)$ , a la fracción de la potencia incidente que es dispersada en el volumen. Por tanto:

$$B(\lambda) = \frac{\Phi_s(\lambda)}{\Phi_i(\lambda)} \quad \text{EC. 2-3}$$

Por último, llamaremos *transmitancia espectral*,  $T(\lambda)$ , a la relación:

$$T(\lambda) = \frac{\Phi_t(\lambda)}{\Phi_i(\lambda)} \quad \text{EC. 2-4}$$

Obviamente, la suma de los tres valores anteriores es igual a la unidad.

$$A(\lambda) + B(\lambda) + T(\lambda) = 1 \quad \text{EC. 2-5}$$

En algunas ocasiones se confunde la absorbancia con la *densidad óptica*,  $D(\lambda)$ , definida como:

$$D(\lambda) = \log \frac{\Phi_i(\lambda)}{\Phi_s(\lambda) + \Phi_t(\lambda)} = -\log(1 - A(\lambda)) \quad \text{EC. 2-6}$$

La densidad óptica es la cantidad medida por un espectrofotómetro. Las POI habitualmente empleadas en la óptica hidrológica son los coeficientes de absorción y scattering, los cuales, respectivamente, representan la absorción y la dispersión espectrales por unidad de longitud en el medio. De acuerdo con la figura anterior, el coeficiente de *absorción espectral* se define como sigue:

$$a(\lambda) = \lim_{\Delta r \rightarrow 0} \frac{A(\lambda)}{\Delta r} \quad \text{EC. 2-7}$$

El *coeficiente de dispersión espectral* se define como:

$$b(\lambda) = \lim_{\Delta r \rightarrow 0} \frac{B(\lambda)}{\Delta r} \quad \text{EC. 2-8}$$

El *coeficiente de atenuación* se define como:

$$\alpha(\lambda) = a(\lambda) + b(\lambda) \quad \text{EC. 2-9}$$

En algunos textos se emplea el término *extinción*, aunque resulta más común el de *atenuación*.

### 2.2.2 Propiedades electromagnéticas

Para el estudio de la propagación de ondas electromagnéticas en el agua según las ecuaciones de Maxwell, resulta necesario conocer las propiedades electromagnéticas del agua: la *permitividad eléctrica*,  $\epsilon$ , la *permeabilidad magnética*,  $\mu$  y la *conductividad eléctrica*,  $\sigma$ . El agua no muestra propiedades magnéticas relevantes, por lo que su permeabilidad puede tomarse igual a la del vacío. La permitividad y la conductividad dependen de la frecuencia de la onda electromagnética y de la temperatura, presión y salinidad del agua [80].

Los efectos de estas tres constantes se resumen en términos del índice de refracción complejo,  $m = n + jk$ . Donde  $n$  es el *índice de refracción* y  $k$  el *coeficiente de absorción*.

La relación entre todas ellas, en unidades del S. I., está dada por:

$$m^2 = \mu\epsilon c^2 - j \frac{\mu\sigma c^2}{\omega} \quad \text{EC. 2-10}$$

Donde  $c$  es la velocidad de propagación en el vacío y  $\omega$  es la pulsación. Las constantes ópticas ( $n$  y  $k$ ) son de gran interés puesto que están relacionadas con las propiedades de absorción y de dispersión del agua. El índice de refracción gobierna la dispersión en los

interfaces según las leyes de la reflexión y refracción y dentro del medio a partir de sus variaciones con la posición. El *coeficiente de absorción espectral*,  $a(\lambda)$ , está relacionado con el *coeficiente de absorción*,  $k(\lambda)$ , mediante la siguiente expresión:

$$a(\lambda) = \frac{4\pi k(\lambda)}{\lambda} \quad \text{EC. 2-11}$$

En la expresión anterior  $\lambda$  indica la longitud de onda en el vacío de una onda electromagnética plana de pulsación  $\omega$ . Lejos de las longitudes de onda del espectro visible, el coeficiente de absorción es muy elevado, por lo que los estudios de la óptica hidrológica se centran en el margen del espectro correspondiente al ultravioleta, visible e infrarrojo.

#### 2.2.2.1 Medida de la absorción y la dispersión espectrales

La obtención del coeficiente de absorción espectral  $a(\lambda)$  es una labor complicada por varias razones. En primer lugar, se trata de un valor muy pequeño excepto en el ultravioleta y en longitudes de onda próximas al azul, por lo que se requieren instrumentos muy precisos. Además, el término de dispersión toma un valor significativo, por lo que pueden solaparse los efectos de la atenuación y la dispersión, especialmente si el agua posee una turbidez elevada. En la literatura se han indicado numerosas técnicas para determinar el coeficiente de absorción espectral del agua,  $a_w(\lambda)$ , algunas de ellas se encuentran descritas por Smith y Baker [81].

La dispersión en el agua está causada tanto por las fluctuaciones de la densidad a pequeña escala ( $\ll \lambda$ ) como por la existencia de partículas ( $> \lambda$ ). La dispersión debida a las propias moléculas de agua determina los valores mínimos del coeficiente de dispersión  $b_w(\lambda)$ . Las medidas de la dispersión resultan mucho más complicadas todavía que las de la absorción. Conceptualmente el diseño parte de la propia definición de la dispersión donde un haz colimado de irradiancia,  $E_i$ , conocida ilumina un pequeño volumen de muestra. La intensidad dispersada es medida en función del ángulo y la longitud de onda. Sin embargo, el diseño de los instrumentos de medida es muy complicado debido al elevado rango dinámico de valores a tomar y a la rápida variación de la dispersión. Algunos de estos instrumentos han sido descritos por Kirk [82] y Jerlov [83].

### 2.2.3 Propagación de la luz en el agua

La propagación de una onda luminosa puede estudiarse, atendiendo a su carácter de onda electromagnética, a partir de su campo eléctrico y magnético asociado. Puesto que ambos campos están ligados por las ecuaciones de Maxwell, basta con conocer uno de ellos para poder obtener el otro.

Suponiendo inicialmente una onda plana monocromática polarizada linealmente que se propaga no confinada por un medio dieléctrico lineal, homogéneo e isótropo en la dirección del eje  $z$ , la amplitud del campo eléctrico sigue la relación:

$$E(z; t) = E(z = 0) e^{-\gamma z} e^{j\omega t} \quad \text{EC. 2-12}$$

Donde  $E(z=0)$  es la amplitud en el origen,  $\gamma$  es la constante de propagación en el medio y  $\omega$  es la pulsación de la señal.

La densidad de potencia media asociada a la onda es proporcional a la amplitud al cuadrado de la expresión del campo eléctrico. De manera que puede definirse una onda de potencia cuya amplitud varía de la siguiente forma:

$$P(z) = P(z=0)e^{-2\alpha z} \quad \text{EC. 2-13}$$

En este caso,  $\alpha$  es el coeficiente de atenuación en el medio.

La atenuación de la onda es debida a la absorción y dispersión de energía por parte del medio. Tal y como se ha expresado anteriormente, esta absorción depende de la longitud de onda de la señal que se propaga. Debido a esta dependencia, la atenuación por propagación en el medio también es una función que depende de la longitud de onda, por lo que la ecuación anterior puede describirse como:

$$P(z) = P(z=0)e^{-2\alpha(\lambda)z} \quad \text{EC. 2-14}$$

Si la onda luminosa no es monocromática, es decir, está compuesta por varias longitudes de onda, las expresiones anteriores pueden generalizarse a partir de combinación lineal de las expresiones de los campos eléctricos de cada una de las longitudes de onda. La suposición de linealidad en el medio de transmisión puede considerarse cierta si los niveles de potencia no son muy elevados.



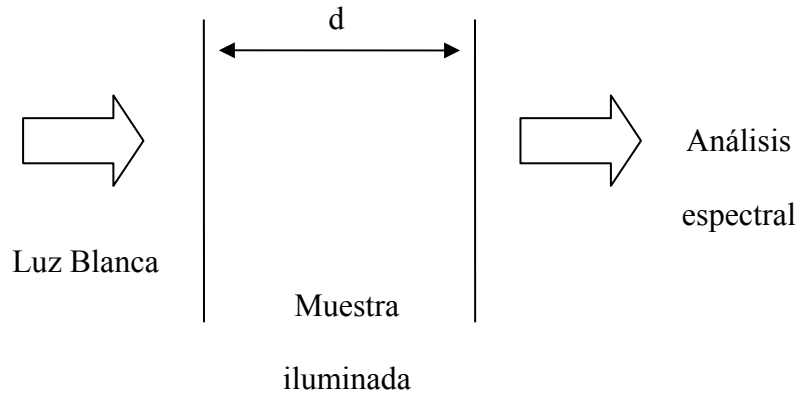


FIGURA 2-3. ESQUEMA GENERAL DEL ENTORNO DE MEDIDA.

Atendiendo a la Figura 2-3, la potencia óptica se obtiene a partir de la siguiente expresión:

$$P(\lambda) = P_{in}(\lambda) e^{-\alpha(\lambda)d} \quad \text{EC. 2-15}$$

De acuerdo con la definición de la transmitancia espectral realizada anteriormente, la transmitancia,  $T$ , puede calcularse como la relación entre las potencias de luz a la salida,  $P_{out}$  y a la entrada,  $P_{in}$ :

$$T = \frac{P_{out}}{P_{in}} \quad \text{EC. 2-16}$$

Si la atenuación que sufre la luz no es igual para todas las longitudes de onda, la *transmitancia* es una función de  $\lambda$ :

$$T(\lambda) = \frac{P_{out}(\lambda)}{P_{in}(\lambda)} \quad \text{EC. 2-17}$$

Asumiendo un medio de transmisión lineal, de acuerdo con la Ec. 2-15:

$$T(\lambda) = e^{-2\alpha(\lambda)d} \quad \text{EC. 2-18}$$

La absorbancia se obtiene, de forma idéntica a la Ec. 2-2, a partir de la relación entre la potencia absorbida por la muestra iluminada y la potencia a la entrada:

$$A(\lambda) = \frac{P_{abs}(\lambda)}{P_{in}(\lambda)} = 1 - e^{-2\alpha(\lambda)d} \quad \text{EC. 2-19}$$

En la última igualdad se han despreciado los efectos de la dispersión.

En algunos textos, especialmente en los de temática química, se utiliza la absorbancia definida a partir de la transmitancia como indica la siguiente ecuación:

$$A(\lambda) = -\log\left(\frac{P_{out}(\lambda)}{P_{in}(\lambda)}\right) = -\log(T(\lambda)) \quad \text{EC. 2-20}$$

Para evitar confusiones entre ambas definiciones de la absorbancia, en esta tesis se va a utilizar de manera preferente la transmitancia.

Considerando la muestra como agua a la que se han añadido diferentes compuestos, las densidades espectrales de potencia ideales a la entrada y la salida quedarían representadas en la Figura 2-4:

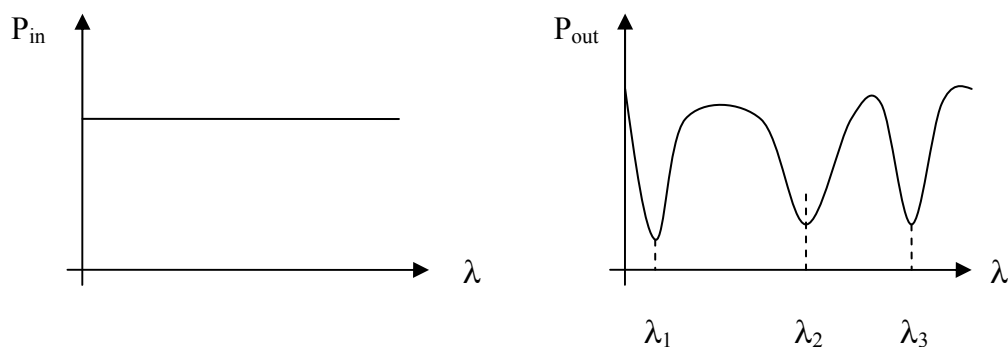


FIGURA 2-4. ESPECTROS IDEALES DE SEÑAL TRANSMITIDA Y RECIBIDA.

Puesto que la absorción de luz es un proceso selectivo determinado por el diagrama de niveles de energía del compuesto, las longitudes de onda  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  y  $\lambda_3$  permitirían identificar la presencia de hasta tres compuestos diferentes en el agua. La atenuación de la señal en cada una de las longitudes de onda está relacionada por la ley de Beer-Lambert con la concentración del compuesto. Por ejemplo, tal y como se comentará en el próximo capítulo, las longitudes de onda de 430 nm y 665 nm podrían indicar la presencia de fitoplancton o una atenuación fuerte a 660 nm podría revelar una gran cantidad de partículas en suspensión. Será clave, por tanto, determinar la longitud de onda a la que se produce la absorción de la luz debida a la existencia de nitrato en el agua para, a partir de esta, determinar la existencia del mismo.

## **2.3 Medida de la concentración de nitrato**

---

La medida de nitratos puede realizarse mediante diferentes técnicas, cada una de ellas posee ventajas y desventajas propias. En este capítulo se presentan los métodos más comunes (cromatografía iónica, espectrometría, colorimetría y electrodos selectivos de iones) para posteriormente analizar con más detalle la técnica de espectrofotometría en el ultravioleta empleada para esta tesis. En este análisis se discutirán también los errores introducidos en la medida por espectrofotometría debidos a la presencia de otros compuestos y a la turbidez, así como los métodos utilizados para compensarlos. .

### **2.3.1 Cromatografía iónica.**

La cromatografía iónica o cromatografía de intercambio iónico es un proceso que permite la separación de los iones y las moléculas polares de acuerdo con sus propiedades de carga. Es un método empleado desde mediados del siglo XIX, cuando en Inglaterra, Thompson y Way trataron varias arcillas con sulfato amónico o carbonato en solución para extraer el amonio y liberar el calcio. En 1927 se empleó la primera columna mineral para eliminar los iones interferentes de calcio y magnesio para poder determinar el contenido de sulfatos del agua. Esta técnica utiliza resinas de intercambio iónico y columnas adicionales para poder eliminar los iones no deseados. Una vez seleccionados los iones a medir, éstos son detectados por algún medio como la conductividad o la absorción en el visible o el ultravioleta. Permite determinar valores muy bajos de concentración, por lo que es muy útil en estudios de calidad del agua.

La cromatografía iónica permite determinar otros iones además del nitrato, pero el tiempo de medida es relativamente largo, dependiendo del tipo de columna y de la muestra. Las muestras deben filtrarse previamente para evitar dañar las columnas. El método es sensible a la temperatura, por lo que los estándares y las muestras deben estar a la misma temperatura, la cual debe permanecer constante si se emplea un detector de tipo conductivo [84].

### **2.3.2 Colorimetría**

Una forma simple de análisis es el empleo de métodos colorimétricos, pero implica el uso de reactivos que tiñen la muestra de agua cuando ésta contiene nitrato. La intensidad del color es proporcional a la concentración. El proceso es práctico, pero la experiencia revela que la intensidad del color varía con la salinidad, además de producirse un residuo tóxico que debe eliminarse por procedimientos especiales [85].

La colorimetría es un método comúnmente empleado para determinar la cantidad de nitrato. Está basado en la reducción de nitrato a nitrito en una columna de cadmio a la que posteriormente se añaden otros compuestos. Las muestras deben filtrarse con anterioridad a la medida para eliminar el aceite o la grasa, el cloro, color o turbidez y ajustar el pH si fuera necesario. La muestra reducida en el cadmio se trata con un agente para formar un compuesto teñido que se mide por colorimetría a 543 nm. Si la muestra a medir contiene nitrato y nitrito es necesario hacer medidas con y sin la utilización de la columna de cadmio para obtener ambos valores [86]. Existen versiones más o menos automatizadas de este método pero implican el uso de agentes tóxicos y requieren

frecuentes calibraciones. Este método, obviamente, no está indicado para la realización de medidas in situ y de manera continua aunque existen versiones de este método para medidas de campo.

### **2.3.3 Electroodos selectivos.**

Los electrodos selectivos para nitrato comerciales están basados en la disposición de un material para el intercambio iónico depositado en unas membranas de PVC. El rango de medida es bastante amplio. Sin embargo son muy sensibles a la interferencia, en especial de los iones de cloruro, lo que implica la necesidad de una calibración relativamente frecuente. El tiempo de vida de la membrana está limitado por la continua pérdida del material de intercambio iónico y la sensibilidad de detección es relativamente pobre. [87].

### **2.3.4 Espectrometría**

Los métodos espectrométricos son métodos instrumentales empleados en química analítica basados en la interacción de la radiación electromagnética u otras partículas, con un analito para identificarlo o determinar su concentración. Estos métodos emplean técnicas espectroscópicas y no espectroscópicas. Las primeras son aquellas en las que el analito sufre procesos de absorción, emisión o luminiscencia.

La aplicación de este procedimiento puede incluir la adición de reactivos para lograr cambios de color en una muestra mediante los cuales el compuesto pueda ser detectado

o algún tipo de preparación de la muestra para suprimir las interferencias y añadir algún agente para crear un nuevo compuesto que incluya el elemento a medir y que pueda ser detectado en un rango de longitudes de onda determinado. En estos casos suele emplearse la medida a una única longitud de onda (generalmente la de absorción máxima) para realizar el análisis [88;89].

Esta es una técnica que ofrece buena precisión. Baste como ejemplo el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas [12]. En él, para el análisis de las muestras, se establecen como técnicas de referencia la espectroscopia de absorción molecular y la cromatografía iónica.

Las medidas realizadas en este trabajo se encuadran dentro de la espectrometría por absorción en el ultravioleta, en algunos casos también denominada espectrofotometría UV, por ser luz ultravioleta la onda electromagnética que interactúa con el analito.

Los nitratos absorben energía en el rango del ultravioleta, presentando un máximo de absorción en torno a 220 nm. En el rango entre 200 y 230 nm, su coeficiente de absorción molar es de aproximadamente  $10^4$  L·cm/mol.

Según indican Gross *et al* [85], desde finales de los años 50, diferentes investigadores han propuesto la medida en el ultravioleta como forma de determinar la concentración de nitrato. Actualmente, entre los métodos estándar [86] se menciona la espectrofotometría en el UV como un método de clasificación para obtener una

concentración aproximada que permita elegir posteriormente el método más adecuado para obtener su valor exacto.

Johnson y Coletti [90] propusieron la espectrofotometría en el ultravioleta para la medida in situ de nitrato, bromuro y bisulfuro en aguas marinas. En su trabajo revelan la necesidad de encontrar instrumentos capaces de medir con alta resolución (rápida respuesta), buena precisión y gran estabilidad para medir nitrato o sulfuro de hidrógeno disueltos para medidas de aguas oceánicas. El equipo, que disponía de una autonomía de un año realizando cinco medidas por día, utilizaba un espectrofotómetro con un rango de medida entre 200 y 400 nm y una resolución de 0,8 nm.

Langergraber *et al* [91] emplearon una fuente de xenón y un espectrofotómetro con rango entre 200 y 750 nm para medir en un reactor experimental nitrato, nitrito, benceno y fenol. El dispositivo empleaba un camino óptico variable para medir distintas concentraciones. La calibración, basada en la elección de varias longitudes de onda, emplea una regresión de mínimos cuadrados parcial.

Coulomb *et al* [92] mencionan otros estudios que igualmente aplican la espectrofotometría en el ultravioleta para la determinación de la concentración de nitrato y de materia orgánica midiendo la absorción a las longitudes de onda de 220 nm, 250 nm o 254 nm.



### 2.3.5 Métodos de medida.

Gross *et al* [85] propusieron un método de medida basado en la absorción de la luz a 220 nm producida por la presencia de nitrato. El procedimiento es simple y no produce residuos tóxicos. Sin embargo, la materia orgánica y algunos iones metálicos pueden causar interferencias en la determinación de la concentración por este método. Para eliminar las interferencias de la materia orgánica y obtener directamente el valor de la concentración de nitrato a partir de la medida a 220 nm, es necesario realizar una digestión de la muestra con persulfato, la cual produce la oxidación de prácticamente toda la materia orgánica [86]. Gross *et al* utilizaron este método para medida, mediante espectroscopia en el ultravioleta, del nitrógeno total en aguas naturales y residuales.

En la literatura pueden encontrarse otras referencias sobre el empleo de métodos de medida a una única longitud de onda [93;94]. Igualmente concluyen que, cuando se emplean estos métodos para analizar una muestra de agua natural, es necesario habilitar un mecanismo de filtrado antes de realizar la medida para evitar los efectos de la turbidez o las interferencias con otros compuestos. Además, estos métodos presentan una gran deriva temporal cuando se emplean para realizar medidas continuas. Para compensar estas variaciones se han empleado métodos con medida a dos longitudes de onda, típicamente 220 y 275 nm. La absorbancia medida a este último valor (libre de la influencia del nitrato) se resta del valor medido a 220 nm según se propone por ejemplo en [86].

También se han propuesto métodos de medida a múltiples longitudes de onda que ofrecen ventajas sobre el de solo dos longitudes. Entre ellas están la adaptación a la respuesta de la materia orgánica presente en la muestra. Una ventaja de este método es que, a diferencia de la colorimetría, no requiere otro tipo de reactivos. Tampoco es necesario filtrar las muestras, salvo en el caso en el que la turbidez sea muy alta. Los métodos de espectrofotometría en el UV de múltiples longitudes de onda se basan en la valoración de la diferencia de los espectros de absorbancia del nitrato y la materia orgánica. Thomas *et al* [95;96] modelan el espectro de la materia orgánica mediante un polinomio, y determinan la concentración de nitrato mediante una regresión multilíneal. En cambio los métodos de Suzuki *et al* [97] y Simal *et al* [98] están basados en el hecho de que el espectro del nitrato cambia mucho más rápidamente que el de la materia orgánica entre 210 y 230 nm. Eliminan el efecto de fondo calculando la segunda derivada del espectro de la muestra. Sin necesidad de digestión alguna de la muestra, Thomas *et al* [95;96] desarrollaron un método basado en la medida de varias longitudes de onda en el rango del ultravioleta. El cálculo de la concentración se realizaba utilizando un método de regresión multilíneal.

Finch *et al* [99] desarrollaron un instrumento para medida de nitrato basado en seis longitudes de onda. Karlsson *et al* [87] realizaron el análisis de la concentración de nitrato en agua residual urbana depurada en Estocolmo mediante espectroscopia en el ultravioleta midiendo desde 180 hasta 820 nm y utilizando el método de ajuste parcial de mínimos cuadrados. Los autores justifican el empleo de este método ante la invalidez de los métodos clásicos de regresión lineal múltiple. Este tipo de métodos de ajuste son

necesarios puesto que la ley de Beer-Lambert (que relaciona absorbancia y concentración) no es aplicable cuando los efectos de dispersión de la luz son significativos. Estos efectos están generalmente originados por propiedades físicas de la muestra, por ejemplo la turbidez. Karlsson *et al* [87] también indican la posibilidad de aplicar el método para medir fósforo total, nitrógeno total, nitrógeno amónico y hierro. El método está basado en el conocimiento previo de la respuesta espectral tipo de la muestra a medir, de tal forma que emplea como parte de la calibración previa, las respuestas obtenidas a lo largo de seis meses. Entre las conclusiones del trabajo se indica, por ejemplo que *“Esto no quiere decir, sin embargo, que el modelo de calibración sea adecuado para muestras de agua residual tomadas en otra área geográfica con una estructura industrial diferente a la de Estocolmo”*.

En el mismo sentido, Beemster y Kahle [89] desarrollaron un método basado en múltiples longitudes de onda, basado en el reconocimiento de patrones que empleaba una combinación de muestras reales y disoluciones con agua destilada y concentraciones de nitrato conocidas. La capacidad de análisis era específica para un único compuesto (nitrato) y fue realizada mediante análisis multivariante y, debido a la utilización de muestras reales, estaba especializado en la medida de la localización donde se han tomado las muestras.

Todos estos métodos emplean el análisis multivariante como procedimiento de calibración y formas de mínimos cuadrados como método de ajuste. Como han puesto de manifiesto estos trabajos, la medida de la absorción a una única o a un pequeño

número de longitudes de onda no es una técnica robusta para la obtención de la concentración de nitrato. Esto es debido a la presencia de otros compuestos que interfieren la respuesta.

Armstrong [100] demostró que una concentración de 10 mg/l de  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Hg}^{2+}$  interfiere con la medida de nitrato a 230 nm. Las aguas que contienen una alta concentración de iones metálicos deben ser pretratadas antes de realizar la medida a través de la absorbancia a una única longitud de onda. De igual modo, concentraciones altas de hidróxidos y carbonatos en aguas con alto pH también interfieren las medidas de nitrato a 220 nm.

Ogura y Hanya [101] encontraron que en el agua marina, entre los compuestos que presentan absorción en el ultravioleta, se encontraban fundamentalmente nitrato, bromuro y materia orgánica y concluyeron que otros compuestos como los carbonatos presentaban muy poca sensibilidad en el ultravioleta.

Guenther *et al* [102] demostraron en laboratorio que era posible obtener las concentraciones de sulfuro e yoduro presentes en una muestra de agua natural realizando la deconvolución del espectro de absorción en el ultravioleta. Estos compuestos presentan una absorción máxima en torno a 230 nm y 226 nm respectivamente.

El nitrito absorbe en el mismo rango de longitudes de onda que el nitrato. Al medir una muestra según los métodos estándar se añade ácido para preservar el nitrato, lo que elimina la interferencia del nitrito y el bicarbonato [86]. Sin embargo, al realizar la

medida directa, sin añadir reactivos, la existencia de nitrito interferirá la medida de nitrato.

### 2.3.6 Materia orgánica.

En las aguas naturales, un importante interferente en la medida de nitrato es la materia orgánica que también absorbe en el ultravioleta. Por tanto, el espectro de absorbancia en el ultravioleta de las aguas naturales es, en muchos casos, la combinación del propio del nitrato más el de la materia orgánica.

Un método de corrección ya comentado consiste en restar al valor de la absorbancia a 220 nm el valor de la misma tomado a 275 nm, longitud de onda para la cual el nitrato es prácticamente transparente. Esta corrección implícitamente asume que la materia orgánica de todas las masas de agua es idéntica. Puesto que esto no es cierto, el método de dos longitudes de onda solo está recomendado para la clasificación (*screening*) de las muestras.

Bricaud *et al* [103] midieron la absorción de la materia orgánica en el agua de mar y comprobaron su ajuste mediante una función exponencial válida en el rango de 350 a 700 nm:

$$a_y(\lambda) = a_y(\lambda_0) e^{-0,014(\lambda - \lambda_0)} \quad \text{EC. 2-21}$$

Donde  $\lambda_0$  es la longitud de onda de referencia (habitualmente 440 nm) y  $a_y(\lambda_0)$  es la absorción debida a la materia orgánica medida a esa longitud de onda. El valor de  $a_y(\lambda)$  depende fuertemente de la concentración y del tipo de materia orgánica.

Posteriormente Thomas *et al* [95;96] modelaron su efecto mediante un polinomio de segundo orden. Holm *et al* [84] modelaron la absorbancia de una muestra de agua potable proveniente de un pozo doméstico utilizando la ley de Beer-Lambert para la concentración de nitrato y un polinomio de tercer orden para la absorbancia de fondo (debida a materia orgánica y a otros posibles interferentes), como muestra la siguiente ecuación:

$$A(\lambda) = k_{\lambda}dN + a_0 + a_1\lambda + a_2\lambda^2 + a_3\lambda^3 \quad \text{EC. 2-22}$$

Otros autores referidos por Holm *et al* en su trabajo [84] han modelado incluso mediante una constante el efecto de la absorbancia de fondo debida a la materia orgánica.

Recientemente, Coulomb *et al* [92] han propuesto otro método para el análisis cuantitativo y cualitativo de la materia orgánica procedente de las descargas de una depuradora municipal en el mar. Las muestras son acidificadas antes de ser medidas. El análisis espectral se realiza entre 200 y 350 nm con precisión de 1 nm lo que, según los autores, permite reducir las interferencias de los principales iones, especialmente cloruros y bromuros. Las muestras se situaron en cubetas de cuarzo de 10 mm de camino óptico. El método está basado en el conocimiento de la señal UV tanto del agua

marina como de la materia orgánica y en la deconvolución del espectro de la muestra con el de los patrones. Considera que el espectro en el UV correspondiente a una muestra de agua marina puede obtenerse como combinación lineal de una serie de espectros de referencia. El método está limitado porque se basa en espectros de un determinado entorno.

### **2.3.7 Influencia de la dispersion.**

Una limitación importante en la realización de medidas directas para evaluar la concentración es la turbidez, la cual provoca una dispersión de la luz debida a la materia en suspensión que reduce el valor de la transmitancia.

Según Gross *et al*, las muestras con mayor turbidez provocaron mayores absorbancias a 275 nm. Esto fue comprobado repitiendo el proceso de medida después de una centrifugación de las mismas. En su estudio comprueban que después de la aplicación de persulfato y del filtrado o centrifugación de las muestras, no es necesario realizar la corrección de la absorbancia medida a 220 nm con la resta de la medida a 275 nm para determinar la concentración de nitrato, corroborando así la influencia de la materia orgánica y de la turbidez en la medida.

El coeficiente de atenuación espectral  $\alpha(\lambda)$  es, tal y como ya se ha indicado, la suma de los coeficientes de absorción  $a(\lambda)$  y de dispersión  $b(\lambda)$  espectrales. Puesto que ambos presentan gran variación con los diversos elementos presentes en el agua, éste también refleja tales dependencias. La turbidez de la muestra tiene una gran influencia en el

coeficiente de dispersión y, por tanto, en la atenuación espectral, por lo que deberá ser otro factor a tener en cuenta a la hora de determinar la concentración de dicha muestra. El estudio del efecto de la turbidez en la medida puede tener dos vertientes: por un lado la compensación de su influencia en la medida y por otro la propia medida de la turbidez o de la cantidad de sólidos en suspensión. La relación matemática que describe la relación entre la dispersión y la longitud de onda en función del diámetro de las partículas fue obtenida por Huber y Frost [104] En este estudio, la intensidad de la luz dispersada se obtiene como una función de cinco variables, tal y como muestra la siguiente ecuación:

$$I_{sc} = f(c, d, \theta, \lambda, n) \quad \text{EC. 2-23}$$

Donde  $c$  representa la concentración,  $d$  el diámetro de la partícula,  $\theta$  el ángulo de medida,  $\lambda$  la longitud de onda de la luz y  $n$  el índice de refracción de las partículas con respecto al medio. El cálculo de esta expresión ya fue realizado por Mie en 1908 para partículas esféricas. La intensidad de la luz es directamente proporcional a la concentración cuando ésta es baja. En los turbidímetros, se emplea esta correlación para determinar la concentración. Para concentraciones altas, se produce efecto de dispersión múltiple que varía la relación lineal. Con respecto al diámetro de las partículas, la intensidad aumenta proporcionalmente a  $d^3$  inicialmente hasta alcanzar un máximo en torno a  $0,3 \mu\text{m}$ , desde el cual decrece en proporción  $1/d$ . El ángulo de dispersión depende también del tamaño de las partículas: para tamaños reducidos se distribuye prácticamente por igual en todas direcciones, mientras que para tamaños mayores es



mucho más direccional. La intensidad de la luz dispersada decrece al aumentar la longitud de onda. El efecto depende del tamaño de las partículas y resulta más acusado para partículas muy pequeñas. Por debajo de un diámetro de 0,05  $\mu\text{m}$  se aproxima a la ley de Rayleigh según  $1/\lambda^4$ . para tamaños mayores el efecto es menos pronunciado. En cuanto al índice de refracción, la intensidad de la luz dispersada es proporcional a la diferencia de índices de refracción entre las partículas en suspensión y el medio. Para la medida de estos parámetros, el estándar ISO 7027 indica la longitud de onda de 860 nm, con una mención al pie de 550 nm. Esta segunda longitud de onda es preferible para la medida de partículas pequeñas. Además la atenuación del agua es mucho menor a 550 nm que a 860 nm.

Este capítulo ha puesto de manifiesto la capacidad de la espectrofotometría en el ultravioleta para llevar a cabo la determinación de la concentración de nitratos, así como las dificultades que las interferencias debidas a otros compuestos pueden provocar en la medida. Además de la atenuación propia de la muestra, para poder valorar de manera precisa la atenuación espectral de los distintos compuestos, es necesario analizar las diferentes atenuaciones que intervienen en la transmisión de señal desde la fuente de luz hasta el analizador de espectros óptico. Este análisis se llevará a cabo en el siguiente apartado.

## 2.4 Condiciones del sistema de medida

Consideremos un esquema más detallado de la transmisión. En la Figura 2-5 se observan los elementos principales que intervienen en el diseño del medidor: fuente, fibra, analizador y muestra.

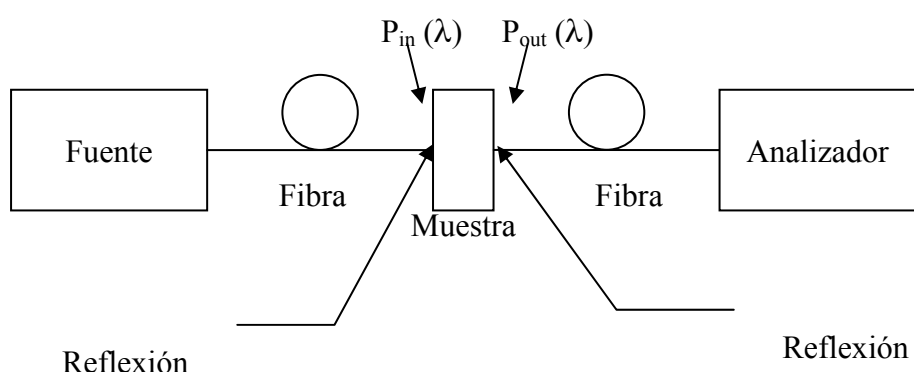


FIGURA 2-5. ESQUEMA DEL SISTEMA DE MEDIDA

En la Figura 2-3 se menciona una fuente de luz blanca, esto es, un emisor de luz cuya distribución de potencia óptica es uniforme en todo el espectro de luz. Evidentemente, este tipo de fuentes no existen en la naturaleza por lo que resulta necesario caracterizar previamente la distribución espectral de la fuente. Por otro lado, debido a la selectividad en longitud de onda de la absorción, no será necesario iluminar la muestra con aquellas longitudes de onda para las cuales los contaminantes no producen absorción. Según los estudios descritos en el capítulo 2.3 y tal y como se verá más adelante, resulta suficiente con un margen de longitudes de onda de 200 a 800 nm.

La fibra óptica realiza las funciones de interconexión de la fuente y el receptor y de iluminación de la muestra. La atenuación de la fibra depende de la longitud de onda. Por este motivo resulta necesario calibrar los equipos conectando a través de la fibra la fuente óptica y el medidor. Tal y como indica la Figura 2-5, en la conexión de la fibra a la muestra se produce una reflexión de Fresnel debida a la discontinuidad de índices de refracción. Esta reflexión se obtiene como sigue:

$$R_{Fresnel} = \left( \frac{n_{fibra} - n_{muestra}}{n_{fibra} + n_{muestra}} \right)^2 \quad \text{EC. 2-24}$$

La fracción de potencia transmitida a través de la discontinuidad será:

$$T_{Fresnel} = 1 - R_{Fresnel} \quad \text{EC. 2-25}$$

La relación entre las potencias a la entrada y la salida de la muestra está dada por:

$$P_{out}(\lambda) = P_{in}(\lambda) T_{Fresnel}^2 e^{-2\alpha d} \eta \quad \text{EC. 2-26}$$

Considerando una fibra de índice de refracción del núcleo igual a 1,5 que ilumina una muestra de agua de índice de refracción 1,33, el coeficiente de transmisión de Fresnel toma el valor  $T_{Fresnel} = 99,64 \%$ . Considerando ambas discontinuidades, la transmisión de potencia entre ambas fibras es del 99,28%. Esto es, el efecto de la discontinuidad de índices de refracción supone una reducción en la potencia recibida inferior al 1%.

El último parámetro  $\eta$  valora la eficiencia de iluminación. Considerando un corte plano en la fibra óptica, el diagrama de radiación con el que se ilumina la muestra es de tipo

Lambertiano (varía según el coseno del ángulo formado con respecto al eje de la fibra). La siguiente figura representa dos fibras ópticas separadas una distancia  $d$  en la dirección determinada por las direcciones  $\theta_0$  y  $\phi_0$ :

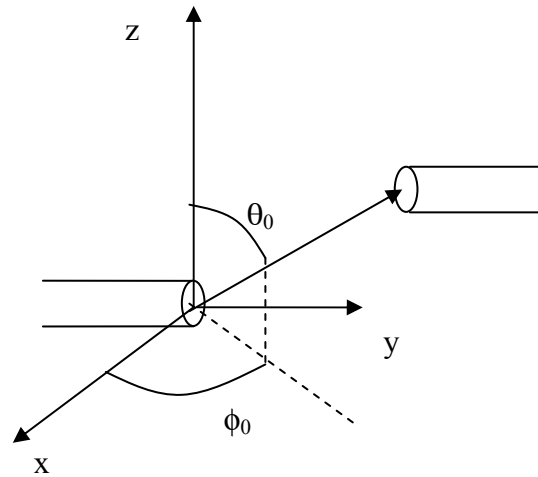


FIGURA 2-6. ACOPLAMIENTO DE POTENCIA ENTRE FIBRAS.

El diagrama de radiación de la fibra tiene aproximadamente la forma  $\text{sen}\theta \cdot \text{sen}\phi$ , de tal forma que la potencia radiada puede obtenerse a partir de la siguiente expresión:

$$P_{rad} = \int_{\theta=0}^{\theta=\pi} \int_{\phi=0}^{\phi=\pi} P_{\max} \text{sen} \theta \text{sen} \phi d\Omega \quad \text{EC. 2-27}$$

Donde  $P_{\max}$  es una constante que depende de la potencia radiada en la dirección del máximo ( $\theta = \pi/2$  y  $\phi = \pi/2$ ) y  $d\Omega$  es el elemento diferencial de ángulo sólido.

Sustituyendo en la expresión anterior  $d\Omega = \text{sen}\theta \, d\theta d\phi$  se obtiene el valor total de la potencia radiada:

$$P_{rad} = P_{max} \frac{\pi}{2} \quad \text{EC. 2-28}$$

Consideremos ahora la potencia acoplada por una fibra en otra. Asumiendo un desalineamiento pequeño, de forma que la dirección indicada esté contenida dentro del cono de aceptación de la fibra receptora, el valor de la potencia radiada en la dirección  $(\theta_0, \phi_0)$  en un elemento de ángulo sólido determinado por  $(\theta_0 \pm \Delta\theta)$  y  $(\phi_0 \pm \Delta\phi)$  estará dado por:

$$P_{acop} = \int_{\theta_1=\theta_0-\Delta\theta}^{\theta_1=\theta_0+\Delta\theta} \int_{\phi_1=\phi_0-\Delta\phi}^{\phi_1=\phi_0+\Delta\phi} P_{max} \sin \theta \sin \phi d\Omega \quad \text{EC. 2-29}$$

Resolviendo la expresión anterior:

$$P_{acop} = P_{max} \sin \phi_0 \sin \frac{\Delta\phi}{2} (\Delta\theta - \cos 2\theta_0 \sin \Delta\theta) \quad \text{EC. 2-30}$$

En direcciones próximas a la de máxima radiación ( $\theta \approx \pi/2$  y  $\phi \approx \pi/2$ )

$$P_{acop} \approx P_{max} \sin \frac{\Delta\phi}{2} (\Delta\theta + \sin \Delta\theta) \quad \text{EC. 2-31}$$

Si los incrementos son suficientemente pequeños ( $\Delta\theta \rightarrow 0$ ,  $\Delta\phi \rightarrow 0$ ), entonces:

$$P_{acop} \approx P_{max} \Delta\phi \Delta\theta \quad \text{EC. 2-32}$$

Considerando sendas fibras de 400  $\mu\text{m}$  de diámetro perfectamente alineadas y separadas una distancia de 10 mm, los elementos  $\Delta\phi$  y  $\Delta\theta$  son iguales y de valor 0,04 rd. Es decir,

la eficiencia de iluminación, definida como el cociente entre la potencia acoplada en la segunda fibra y la potencia radiada será:

$$\eta = \frac{P_{acop}}{P_{rad}} \approx 0,1\% \quad \text{EC. 2-33}$$

La eficiencia de iluminación se reduce aún más si los ejes de las fibras no se encuentran perfectamente alineados. Esta ínfima eficiencia de iluminación hace necesaria la existencia de un dispositivo que permita colimar el diagrama de radiación lambertiano de la fibra emisora de luz.

El sistema de medida debe posibilitar la estimación de la concentración de diversas sustancias a partir de su identificación espectral tal y como se menciona en la Figura 2-4. Una vez determinada la presencia de un compuesto, el valor de la transmitancia a su longitud de onda de absorción queda determinado por:

$$T(\lambda_0) = \eta T_{Fresnel}^2 e^{-2\alpha(\lambda_0)d} \quad \text{EC. 2-34}$$

La eficiencia de iluminación y el coeficiente de transmisión de Fresnel introducen una reducción prácticamente constante con la longitud de onda en el valor ideal de la transmitancia. Este error puede subsanarse mediante una calibración previa del equipo. El parámetro que resta representa la atenuación por absorción de energía de la muestra iluminada a la longitud de onda de resonancia de la sustancia.

La atenuación por unidad de longitud,  $\alpha(\lambda_0)$  depende de la absorción intrínseca del agua a esa longitud de onda y de la absorción de la sustancia a medir:

$$\alpha(\lambda_0) = \alpha_{H_2O}(\lambda_0) + \alpha_{sust}(\lambda_0) \quad \text{EC. 2-35}$$

Combinando las dos últimas ecuaciones:

$$T(\lambda_0) = \eta T_{Fresnel}^2 e^{-2(\alpha_{H_2O}(\lambda_0) + \alpha_{sust}(\lambda_0))d} = \eta T_{Fresnel}^2 e^{-2\alpha_{H_2O}(\lambda_0)d} e^{-2\alpha_{sust}(\lambda_0)d} \quad \text{EC. 2-36}$$

La atenuación debida al agua es muy pequeña salvo en el azul y el ultravioleta. Por tanto, el valor de la primera exponencial es aproximadamente igual a la unidad en la mayoría de los casos. En el resto, supondrá un error fijo a valorar en el proceso de calibración.

Según la ley de Beer-Lambert, la absorbancia de un compuesto en disolución, definida según la Ec. 2-20, a una determinada longitud de onda es el producto del coeficiente de absorción ( $k_\lambda$ ) a la longitud de onda dada, multiplicado por la distancia recorrida ( $d$ ) y por la concentración ( $N$ ) de dicho compuesto. Por tanto, la transmitancia puede calcularse como:

$$T(\lambda) = 10^{-k_\lambda \cdot d \cdot N} \quad \text{EC. 2-37}$$

En esencia, la ley afirma que existe una dependencia logarítmica entre la transmisión de la luz a través de una sustancia y su concentración. La ley deja de cumplirse para valores de concentración altos por las interacciones entre las partículas que absorben la

luz y, especialmente si en el medio se produce dispersión de la señal luminosa. También, si la intensidad luminosa empleada es muy elevada, pueden producirse efectos ópticos no lineales no contemplados en la Ley de Beer-Lambert.

La atenuación debida a la sustancia depende, por tanto, directamente de su concentración. La cantidad de energía absorbida por cada molécula es una cantidad fija determinada por su diagrama de niveles de energía. La cantidad de energía total absorbida será igual al número de moléculas iluminadas por la energía absorbida por cada molécula. Considerando  $N$  (mg/l) como el valor de la concentración de la sustancia, la atenuación debida a esta puede expresarse como:

$$\alpha_{sust}(\lambda_0) = kN \text{ (mg / l)} \quad \text{EC. 2-38}$$

Donde  $k$  es una constante a determinar. Si el valor del producto  $\alpha_{sust} \cdot d$  es pequeño, la segunda exponencial de la Ec. 2-36 puede aproximarse por los dos primeros términos de su desarrollo en serie de Taylor:

$$e^{-\alpha_{sust}(\lambda_0)d} \underset{kdN \text{ (mg/l)} \ll 1}{\approx} 1 - k_1 dN \text{ (mg / l)} \quad \text{EC. 2-39}$$

Si se pretende trabajar en condiciones lineales, el producto  $d \cdot N$  debe mantenerse en un valor suficientemente pequeño. Esto puede suponer un problema de precisión si la sensibilidad del espectrofotómetro no es suficientemente buena. Sin embargo, si se ha de realizar un análisis espectral preciso, el equipamiento a utilizar será relativamente costoso. Una buena solución consiste en realizar un tratamiento software posterior de



los datos proporcionados por el análisis espectral. Realizando un logaritmo neperiano del valor de la transmitancia.

$$\ln(T(\lambda_0)) = \ln\left(\eta T_{Fresnel}^2 e^{-2\alpha_{H_2O}(\lambda_0)d}\right) + \ln\left(e^{-2\alpha_{sust}(\lambda_0)d}\right) \quad \text{Ec. 2-40}$$

Combinando la expresión anterior con la Ec. 2-38, se obtiene:

$$\ln(T(\lambda_0)) = k_2 - 2dk_1N(mg/l) \quad \text{Ec. 2-41}$$

Si el valor de la transmitancia es muy pequeño debido a la elevada atenuación provocada por una concentración elevada será necesario un equipamiento con niveles de sensibilidad elevados. Esta característica puede influir decisivamente en el coste del equipo. La separación entre las fibras,  $d$ , puede ajustarse para mantener los valores de la señal recibida por encima de la sensibilidad del receptor óptico. Si la concentración a medir es muy elevada, interesarán sondas cuya distancia entre fibras sea reducida. Por otro lado, si la concentración es pequeña, puede aumentarse la separación entre fibras.

La Ec. 2-41 revela la necesidad de realizar una calibración del instrumento de medida para ajustar las constantes  $k_1$  y  $k_2$  que relacionan la transmitancia y la concentración.

De los análisis realizados en este capítulo se deduce la necesidad de realizar un estudio detallado de la respuesta espectral del nitrato, así como de encontrar un método para valorar las interferencias de otros compuestos si se quiere realizar una medida *in situ* de su concentración. Por otro lado, también se ha revelado la necesidad de disponer de una forma eficiente de acoplar la energía entre dos fibras ópticas que permitan la

iluminación de la muestra desde la fuente de luz hasta el analizador de espectros. En el próximo capítulo se detallan los materiales y métodos empleados para llevar a cabo estas tareas.

### 3 MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1 Material empleado

En primer lugar se ha llevado a cabo el análisis detallado de la respuesta espectral provocada por la presencia de nitratos en agua. Para evitar los problemas comentados de eficiencia de iluminación se ha optado por realizar los ensayos situando la muestra en una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso. La creación de un sistema óptico para la medida *in situ* de ha realizado en una etapa posterior.

El equipamiento empleado para la medida de la concentración de nitratos a través de técnicas espectrofotométricas es el que se muestra en la siguiente figura.



FIGURA 3-1 MONTAJE DE MEDIDA

1. **Fuente de luz:** Es una fuente de luz deuterio-halógeno que emite entre 190 y 850 nm. Consta de dos lámparas combinadas, una de deuterio y otra de un

halógeno que pueden ser activadas de forma individual o simultanea. En algunas fases del trabajo se ha empleado únicamente la fuente de deuterio cuya respuesta espectral está comprendida entre 190 y 600 nm. Este tipo de fuente presenta la ventaja de la estabilidad frente a las lámparas de xenón.

2. **Espectrofotómetro óptico:** Se trata de un dispositivo cuyo funcionamiento está basado en una red de difracción que permite captar una señal óptica en un CCD y analizarla en función de la longitud de onda. El análisis realizado puede ser enviado a un ordenador tipo PC a través de una salida paralelo. Los datos han sido tratados mediante el software Spectrawiz 2.1 suministrado por Stellarnet y a través un programa propio que se ha diseñado para tal fin. El rango de longitudes de onda en el que permite el análisis va desde 200 hasta 800 nm con una precisión de 0,5 nm. Esto es, comprende longitudes de onda desde el ultravioleta hasta el infrarrojo, pasando por todo el margen visible. Se trata de un espectrofotómetro de bajo coste que obtiene una medida cualitativa del espectro de la señal luminosa. Para obtener el valor de la medida es necesario disponer de un patrón de calibración adicional. Al no disponer de este patrón, la unidad de medida indicada en las gráficas se ha expresado como número de cuentas. Esta cantidad es proporcional al valor de potencia.



FIGURA 3-2 ESPECTRÓMETRO ÓPTICO Y FUENTE DE LUZ UV.

3. **Cable paralelo:** Para la conexión del espectrofotómetro al PC se emplea un cable paralelo con conexiones DB-25.
4. **Ordenador:** PC con sistema operativo Windows en el que se encuentran instalados el software mencionado y una tarjeta de comunicación paralela de tipo Lava Parallel-PCI fabricada por Stellarnet al igual que la fuente y el espectrofotómetro.
5. **Cables de Fibra óptica:** Se trata de unos latiguillos de fibra óptica de 400  $\mu\text{m}$  de diámetro, optimizados para su funcionamiento en el ultravioleta y el visible. La longitud de estas fibras es de 2 m y están terminadas en conectores SMA.
6. **Sensor:** El sensor es el elemento que va a encontrarse en contacto con la muestra a medir. Como elemento de comparación inicial se ha tomado un soporte para cubetas estándar tal y como muestra la Figura 3-1. En el capítulo

4.3 se irán describiendo algunas variantes ensayadas hasta la obtención del prototipo final.

Una vez descrito el equipo empleado, se ha procedido a la caracterización de cada uno de los elementos para determinar su respuesta espectral. Puesto que las fuentes de luz y el espectrofotómetro permiten un margen máximo de medida desde 200 nm hasta 800 nm, éste ha sido el rango elegido para la caracterización de los componentes del sistema.

### **3.1.1 Fuentes de luz.**

El emisor de luz disponible consta de dos fuentes de luz de halógeno y deuterio que pueden funcionar de manera conjunta o individualizada. La respuesta espectral de la fuente de halógeno en el margen de longitudes de onda considerado se muestra en la Figura 3-3.

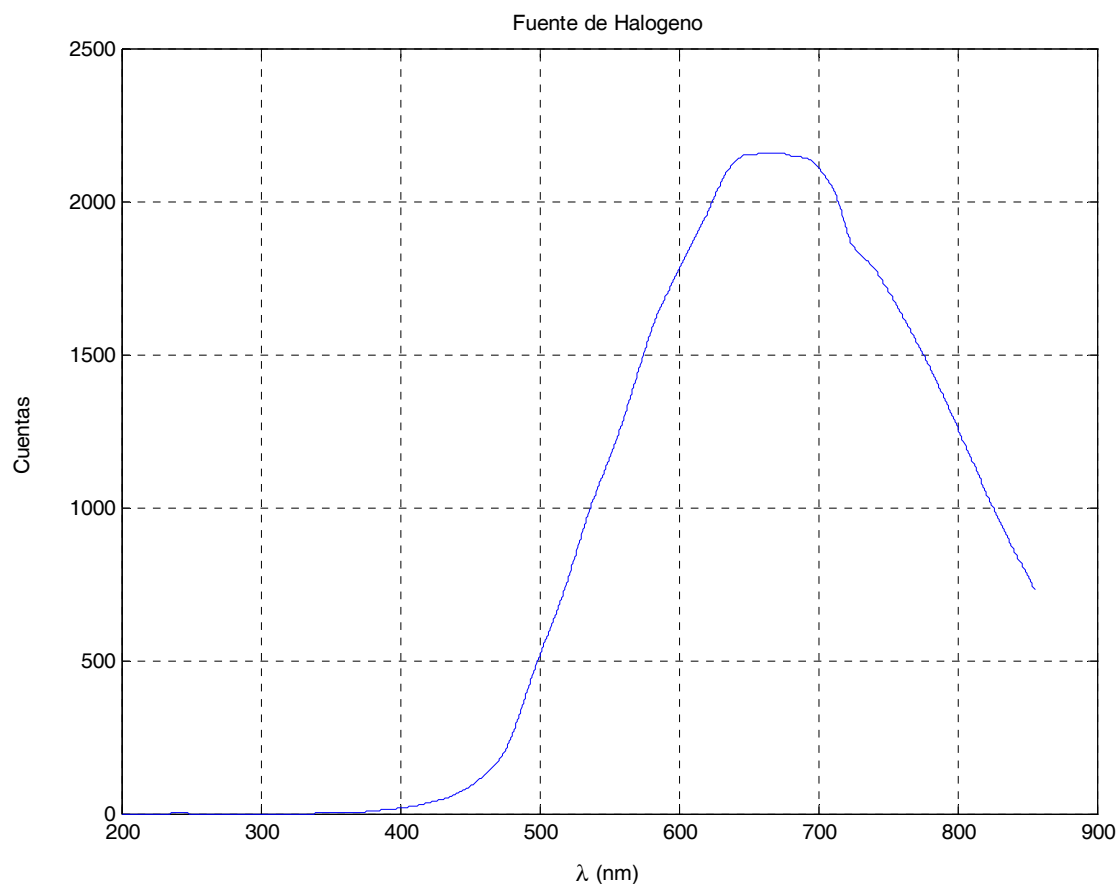


FIGURA 3-3 ESPECTRO DE LÁMPARA HALÓGENA

Como puede observarse en la figura anterior, la fuente tiene una emisión espectral que corresponde fundamentalmente con las longitudes de onda del espectro visible y del infrarrojo (500 – 800 nm). En la zona del ultravioleta, su emisión es prácticamente nula.

La respuesta espectral de la fuente de deuterio en el rango de longitudes de onda de trabajo se muestra en la Figura 3-4.

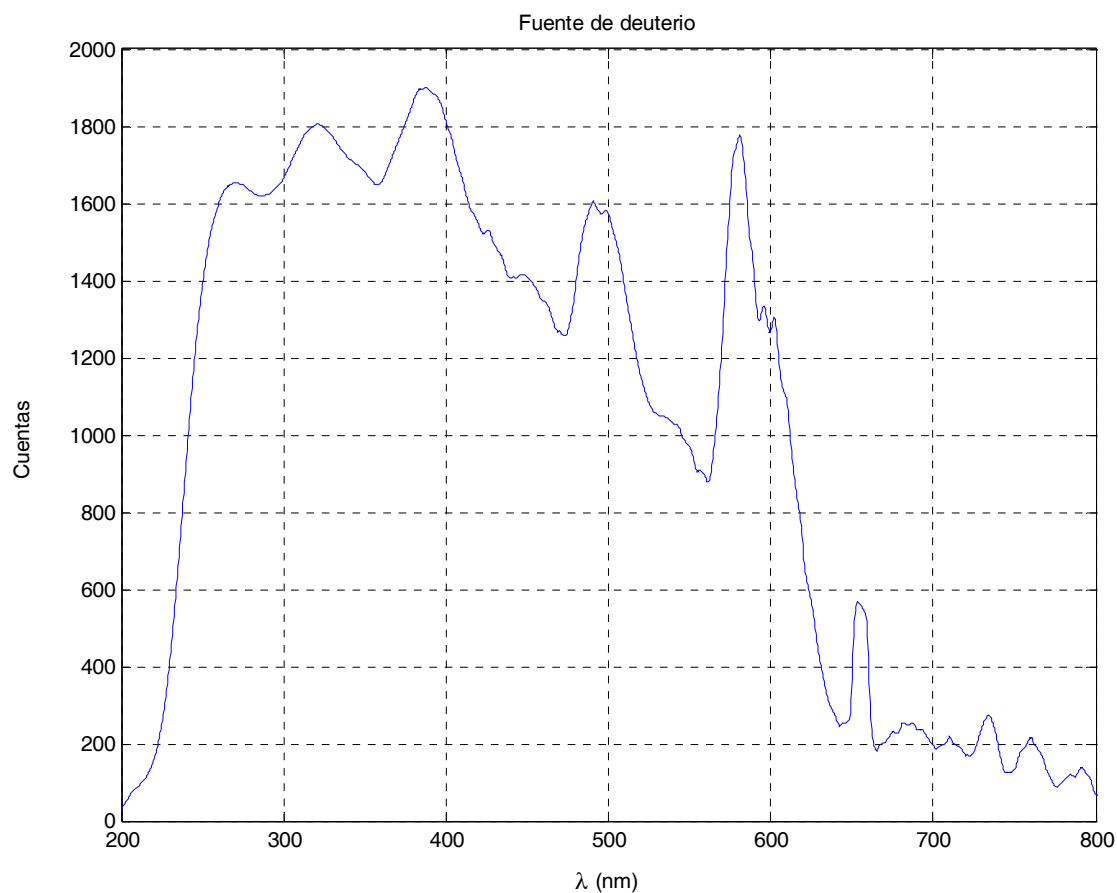


FIGURA 3-4 ESPECTRO DE LÁMPARA DEUTERIO

El espectro de emisión de esta fuente es complementario al de la anterior. Su emisión comprende fundamentalmente las longitudes de onda correspondientes al ultravioleta y al visible (200 – 600 nm). El nivel de potencia máximo de esta fuente es similar, aunque inferior, al de la lámpara de halógeno.

Si se activan ambas fuentes conjuntamente, se observa el espectro mostrado en la Figura 3-5.



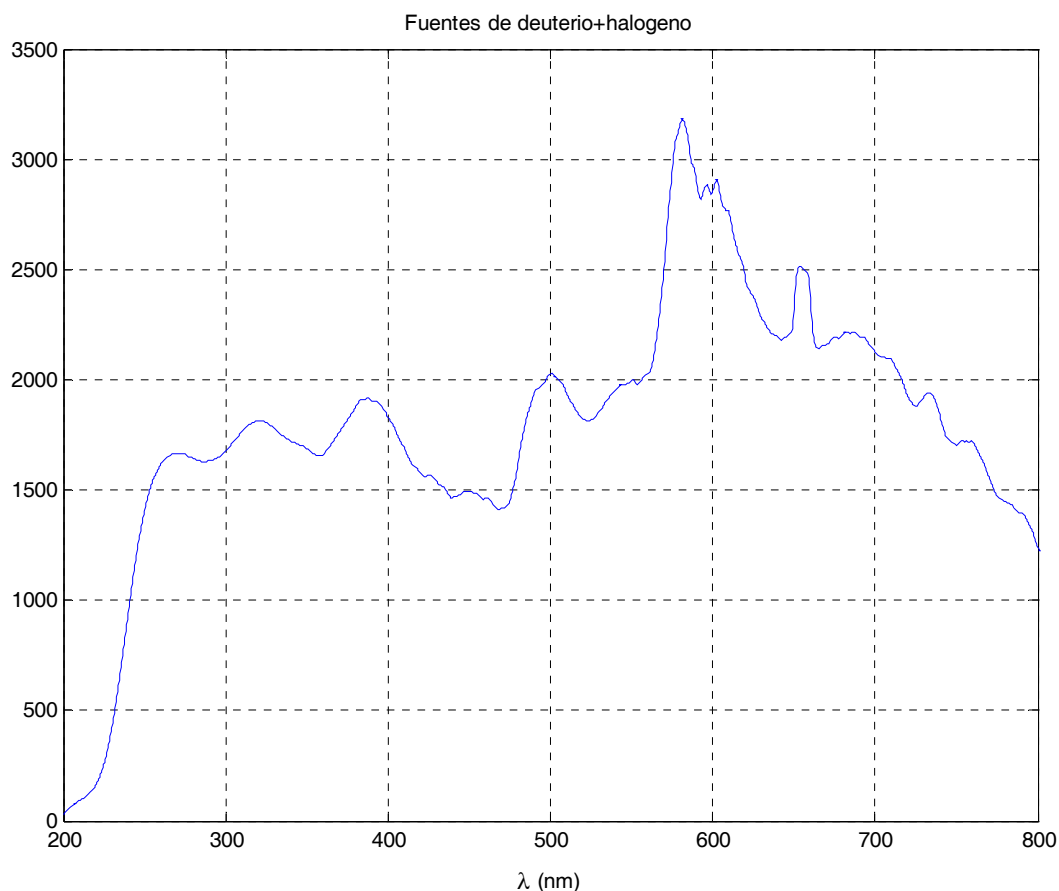


FIGURA 3-5 ESPECTRO CONJUNTO DE LAS LÁMPARAS DE HALÓGENO Y DE DEUTERIO.

La emisión conjunta de ambas fuentes es elevada a partir de aproximadamente 250 nm y hasta 800 nm, presentando el máximo de emisión en torno a 570 nm. La zona de menor respuesta es desde 200 a 250 nm. Como se verá posteriormente, esto supone un problema cuando existen pérdidas elevadas en esta zona debido al resto de los elementos, puesto que el rango de longitudes de onda de mayor interés para el análisis de la concentración de nitratos se encuentra precisamente en este margen.

### 3.1.2 Espectrofotómetro.

En la presentación de los equipos ya se ha indicado que el espectrofotómetro utilizado no permite la medida con precisión del valor de la intensidad luminosa a menos que se disponga de una fuente patrón de calibración. Para el trabajo realizado este patrón no es necesario puesto que se ha realizado una comparación proporcional de la respuesta espectral de una muestra en relación con la respuesta de otra de agua destilada.

Este tipo de comparaciones se ha realizado mediante la medida de la transmitancia y la absorbancia. Para determinarlas es necesario tomar dos valores de referencia: uno en condiciones de iluminación y otro en condiciones de oscuridad.

La medida en condiciones de oscuridad permite conocer el valor del fondo de ruido del espectrofotómetro, entendido como el número de cuentas obtenido a una determinada longitud de onda en ausencia de iluminación ( $N_D(\lambda)$ ).

La medida en condiciones de iluminación muestra el número de cuentas obtenido a una determinada longitud de onda cuando la fuente y el espectrofotómetro se encuentran conectados en condiciones óptimas ( $N_L(\lambda)$ ). Este valor representa el fondo de escala de la medida. Para la caracterización de los latiguillos de fibra óptica y del soporte de cubetas, la condición óptima de conexión es a través de un único latiguillo de fibra. Para la medida de las diferentes muestras, la condición óptima de conexión es la que permite la unión de la fuente y el espectrofotómetro a través de los latiguillos de fibra

conectados al soporte de cubetas (o al sensor según corresponda), disponiendo una muestra de agua destilada en la cubeta.

Cuando se sustituye esta muestra de agua destilada por la muestra a medir, el número de cuentas obtenido en cada longitud de onda puede variar, dependiendo de la selectividad en longitud de onda de la muestra, obteniéndose un nuevo valor de medida ( $N_S(\lambda)$ ). En cualquier caso, este valor debe estar comprendido ente el valor medido en condiciones de oscuridad y el valor óptimo medido en condiciones de iluminación. A partir de estos tres valores se obtienen la transmitancia ( $T(\lambda)$ ) y la absorbancia ( $A(\lambda)$ ) de la muestra medida como:

$$T(\lambda) = \frac{N_S(\lambda) - N_D(\lambda)}{N_L(\lambda) - N_D(\lambda)} \times 100 \quad \% \quad \text{EC. 3-1}$$

$$A(\lambda) = \frac{N_L(\lambda) - N_S(\lambda) - N_D(\lambda)}{N_L(\lambda) - N_D(\lambda)} \times 100 \quad \% \quad \text{EC. 3-2}$$

Las dos ecuaciones anteriores representan valores que han de estar contenidos entre 0 y 100 %. Aunque la afirmación anterior puede resultar una obviedad, en ocasiones, cuando las personas que realizan una medida desconocen estas nociones mínimas y especialmente si se realizan rectas de calibración que no supongan más que meras aproximaciones lineales de los valores anteriores, pueden obtenerse valores superiores al 100% de transmitancia. Evidentemente estos resultados han de descartarse pues, o bien se encuentran fuera del margen de validez de la aproximación lineal, o bien se han considerado como óptimas condiciones de medida inadecuadas.

Una vez establecidos correctamente los valores de referencia de iluminación y oscuridad los valores de transmitancia de ambas situaciones pueden observarse en la Figura 3-6.

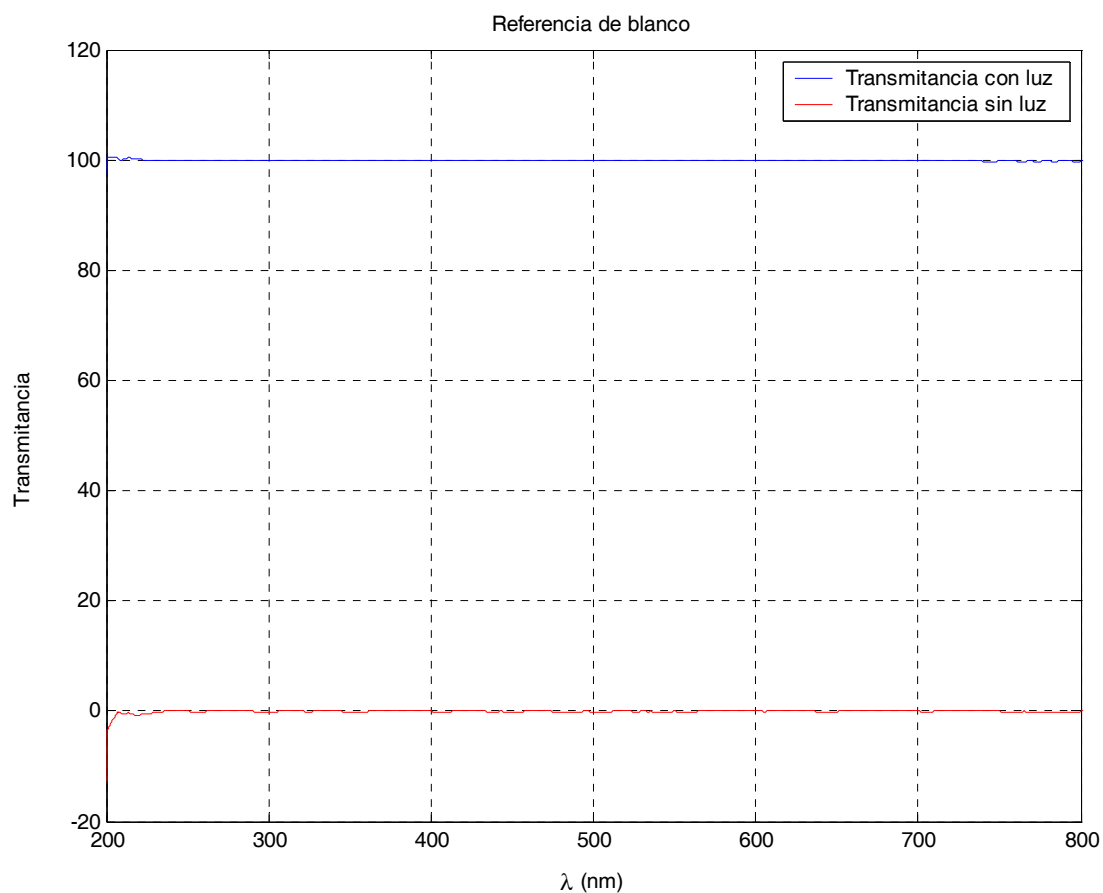


FIGURA 3-6 TRANSMITANCIA EN CONDICIONES DE ILUMINACIÓN Y OSCURIDAD.

### 3.1.3 Fibra óptica y soporte de cubetas.

La emisión de las fuentes bajo estudio comprende un rango de longitudes de onda que van desde el ultravioleta hasta el infrarrojo. Para detectar la presencia de los nitratos, la

zona de mayor interés reside en el ultravioleta, en torno a 220 nm. En esta zona, la intensidad luminosa recibida es la más débil de todo el espectro, tal y como puede comprobarse en la Figura 3-5. Por este motivo es necesario utilizar elementos cuyo funcionamiento se encuentre optimizado en dichas longitudes de onda.

La fibra estándar de comunicaciones, cuyo diámetro del núcleo es de aproximadamente 9 micras y está compuesta fundamentalmente de dióxido de silicio, presenta una fuerte atenuación en el ultravioleta. Para solventar este inconveniente se ha empleado una fibra optimizada para el trabajo en el ultravioleta de 400 micras de diámetro. La respuesta espectral de la fibra utilizada se muestra en la Figura 3-7.

Como se observa en dicha figura, la transmisión de señal es relativamente buena a partir de unos 300 nm de longitud de onda. En la zona de interés para la detección de nitratos, la respuesta de este tipo de fibra decrece hasta valores en torno al 20 - 30 % de la señal original.

Si se compara la intensidad de la señal al conectar todos los elementos (Figura 3-8) de nuestro sistema de medida inicial (latiguillos de fibra, soporte de cubeta y cubeta con agua destilada), el valor de transmitancia es el que se muestra en la Figura 3-9.

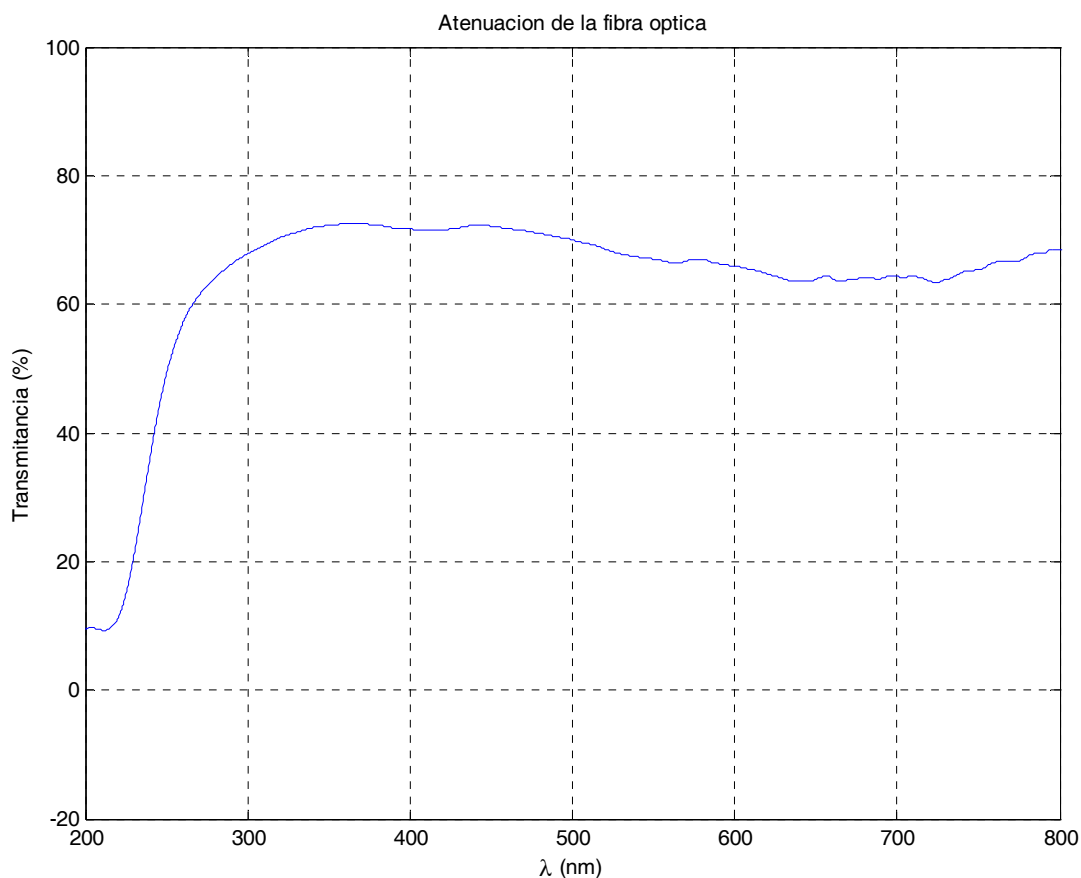


FIGURA 3-7 TRANSMITANCIA EN LOS LATIGUILLOS DE FIBRA ÓPTICA.

A pesar del empleo de fibra óptica optimizada para la transmisión en el ultravioleta, las pérdidas son muy elevadas, obteniéndose valores del coeficiente de transmisión en torno al 20 – 30 %. Sin contar los efectos de la eficiencia de acoplo, las fibras de conexión son el origen de la principal fuente de reducción del nivel de señal. Para la realización de un dispositivo práctico de medida, la longitud de estas fibras debe minimizarse, por lo que deberán encontrarse tan próximos como sea posible, las fuentes, el elemento sensor y el espectrofotómetro.



FIGURA 3-8 SOPORTE DE CUBETAS CON FIBRAS CONECTADAS

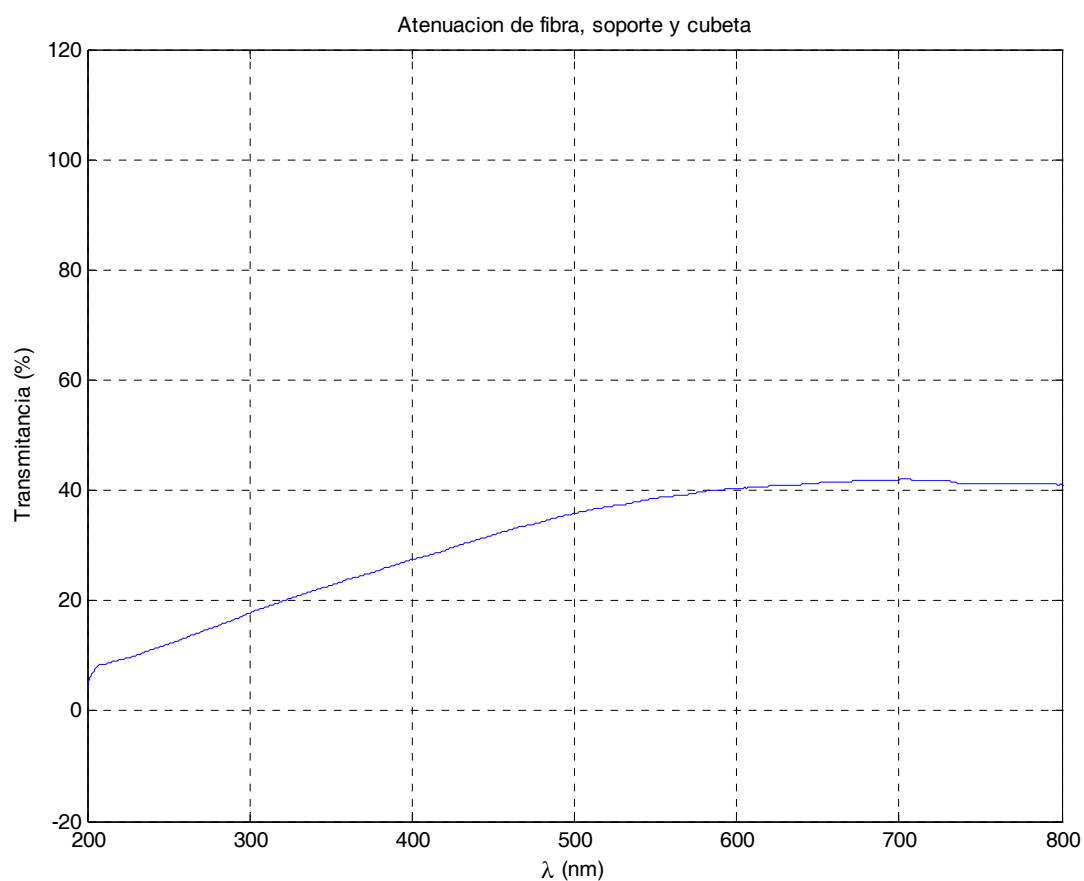


FIGURA 3-9 TRANSMITANCIA DE LATIGUILLOS, SOPORTE Y CUBETA DE CUARZO.

La incorporación de los elementos del sistema de medida inicial implica una eficiencia en la transmisión de luz en el margen de longitudes de onda de interés para los nitratos de aproximadamente un 10 %. Estos elementos suponen, por tanto, una serie de errores sistemáticos en el sistema de medida que deben ser corregidos mediante un ajuste previo. Una vez realizado este ajuste, los espectros de transmisión para una muestra de agua destilada para los casos de oscuridad e iluminación serán idénticos a los mostrados en la Figura 3-6. Esto no implica que el sistema de medida tenga una influencia menor puesto que la reducción de la intensidad luminosa recibida supone una limitación importante a la hora de medir elevadas concentraciones de nitrato. Una buena cualidad que se observa en la Figura 3-9 es la relativa planicidad de la transmitancia en el rango de longitudes de onda analizado. El principal inconveniente es que los valores más bajos de transmitancia se obtienen nuevamente en la zona de interés para la medida de la concentración de nitrato.

Las dificultades mencionadas en la interpretación y deconvolución de los espectros de nitrato en aguas residuales en condiciones reales obligan a emplear métodos de ajuste y síntesis espectral multivariante. En muchas ocasiones, la falta de datos experimentales o modelos precisos que permitan una calibración correcta obliga a realizar estimaciones que supongan un compromiso óptimo entre la información disponible y el margen de actuación de nuestros sistemas automáticos. En el caso de problemas de optimización complejos, como el que nos ocupa, las técnicas de computación evolutiva se han mostrado eficientes. En el próximo capítulo se realiza una breve introducción a los algoritmos evolutivos y se explica cómo se han aplicado en el contexto de este trabajo.



---

## 3.2 Computación evolutiva

---

La idea de aplicar los principios de la evolución a la solución automática de problemas se inicia en la década de 1950. Durante los años sesenta se realizaron tres implementaciones diferentes de esta teoría. En los Estados Unidos Fogel desarrolló la programación evolutiva. Holland llamó a su método algoritmo genético. En Alemania, Rechenberg y Schwefel hablaron de estrategias evolutivas. Durante unos quince años, estas tres técnicas se desarrollaron por separado y, desde los primeros años de la década de 1990 se las empieza a considerar diferentes representantes de una misma tecnología conocida como computación evolutiva. En esos mismos años surgió una cuarta corriente conocida como programación genética. Actualmente se denota como computación evolutiva al área en su conjunto y se consideran sub-áreas de la misma la programación evolutiva, las estrategias evolutivas, los algoritmos genéticos y la programación genética [105;106].

La idea subyacente detrás de estas técnicas, común a todas ellas, es la siguiente: dada una población de individuos, la presión ambiental provocará la selección natural (supervivencia del más fuerte) y por tanto, la capacidad de la población (*fitness*) aumentará. En otros términos, el proceso de selección natural puede considerarse como una optimización de la población. Dada una función objetivo a maximizar, es posible a partir de una serie de soluciones (individuos) creados aleatoriamente, encontrar una solución utilizando dicha función objetivo como medida de la capacidad de los mismos.

De acuerdo con esta medida, las mejores soluciones serán elegidas como generadoras (padres) de la siguiente generación aplicando recombinaciones y/o mutaciones. La recombinación es la unión de dos o más candidatos seleccionados para generar uno o más individuos. La mutación se aplica a un candidato para crear otro nuevo. La mutación es un proceso que se realiza con una probabilidad de ocurrencia baja. La aplicación de las técnicas de recombinación y mutación da lugar a un conjunto de nuevos candidatos (descendientes). De acuerdo con su capacidad (adecuación a la función objetivo), estos descendientes competirán con sus progenitores para serlo de la siguiente generación. Este proceso se repetirá hasta encontrar una solución o hasta cumplir un determinado límite de tiempo [105].

La función objetivo representa una estimación heurística de la calidad de cada solución. El proceso de búsqueda se lleva a cabo mediante los operadores de variación (recombinación y mutación para crear nuevos candidatos) y los operadores de selección.

Un aspecto crucial en el diseño de un algoritmo evolutivo es intentar preservar la diversidad genética de la población el mayor tiempo posible. A diferencia de otros métodos de optimización, los algoritmos evolutivos emplean una población completa de individuos y esta es justo una de las razones de su potencia. Sin embargo, si la población empieza a concentrarse en una región muy estrecha del espacio de soluciones, todas las ventajas de mantener diferentes individuos se desvanece mientras que se mantiene el mayor coste computacional de calcular la capacidad de cada uno de ellos. Este fenómeno se conoce como convergencia prematura [105].

En general, existen dos fuerzas contrapuestas en un algoritmo evolutivo: selección y variación. La primera representa un impulso hacia la calidad y tiende a reducir la diversidad de la población. La segunda, implementada mediante los operadores de mutación y recombinación, representa un impulso hacia la novedad y, por tanto, aumenta la diversidad genética.

### **3.2.1 Características fundamentales de un algoritmo evolutivo**

Los principales rasgos de un algoritmo evolutivo son [105]:

1. Representación. La solución de un problema dado mediante un algoritmo evolutivo comienza con la representación de las soluciones candidatas. Ésta consiste en una codificación numérica de las posibles soluciones en cadenas.
2. Función de evaluación o adecuación. La selección basada en la capacidad o adecuación es la fuerza que representa la dirección hacia la mejora de la calidad de la población en un algoritmo evolutivo. El diseño de la función de adecuación es crucial puesto que su cálculo implica la mayor parte del coste computacional.
3. Inicialización. Este es el proceso por el cual se crea la población inicial de soluciones. La creación se produce habitualmente mediante algún tipo de muestreo aleatorio del espacio de soluciones realizado de la forma más uniforme posible.
4. Cruce. El operador de cruce toma dos o más padres y genera un descendiente intercambiando información entre ellos. La idea subyacente para explicar el

funcionamiento del cruce es que la buena capacidad de los progenitores está localizada del algún modo en partes concretas de su material genético (bloques constructivos). Recombinando estos bloques se conseguirá un aumento de la adecuación.

5. Mutación. Los operadores de mutación consisten en una transformación estocástica de un individuo. Para mantener el compromiso entre la exploración y la explotación es necesario permitir mutaciones (teóricamente esto implica asegurar la ergodicidad del proceso estocástico) y es la única manera práctica de reintroducir diversidad genética en el proceso evolutivo. Sin embargo, un número excesivo de mutaciones convierten al algoritmo evolutivo en un proceso de optimización de tipo *random walk*. Los operadores de cruce y mutación se conocen como operadores de explotación.
6. Darwinismo artificial. La teoría de la evolución de Darwin afirma que los individuos con mayor adecuación o capacidad serán los que se reproduzcan y sobrevivan. El motor del algoritmo evolutivo son la selección (solo algunos padres engendrarán nuevos descendientes) y el reemplazo (de algunos padres por sus descendientes) implementados de manera artificial. El proceso natural y el artificial difieren esencialmente en que durante la selección, el mismo padre puede elegirse sucesivas veces y que durante el reemplazo, cada individuo, tanto padres como descendientes, o es seleccionado o desaparece para siempre. La selección proporcional a modo de ruleta ha sido el operador de selección más tradicional: cada padre tiene una probabilidad de ser seleccionado proporcional a

su capacidad. La mayor complejidad estriba en el modo de escalar la capacidad para ajustar la presión de selección. La solución habitual hoy en día es una selección de tipo torneo: para seleccionar a un individuo, se escogen  $T$  individuos uniformemente y el mejor de esos  $T$  es el elegido. Por supuesto, tanto ruleta como torneo actúan repetidamente sobre la misma población para así permitir una selección múltiple de los mejores individuos. Existen dos tipos fundamentales de reemplazo: en el primero de ellos tanto padres como hijos compiten por la supervivencia y en el segundo, solamente algunos de los hijos pueden ser padres de la siguiente generación. Si se denotan como  $\mu$  y  $\lambda$  los números de padres e hijos, el primer tipo de reemplazo se conoce como  $(\mu+\lambda)$ , mientras que la segunda se conoce como  $(\mu, \lambda)$ . Cuando  $\mu=\lambda$  el segundo tipo se conoce como reemplazo generacional, puesto que cada padre es reemplazado por un descendiente. Cuando  $\lambda=1$  la estrategia se denomina creación continua y en el caso  $(\mu+\lambda)$  equivalente a elegir un padre para ser reemplazado. Un punto importante en la evolución es la continuidad del mejor individuo a lo largo de las generaciones. El reemplazo  $(\mu+\lambda)$  es elitista puesto que asegura que, al menos, se mantiene al individuo más capaz de una generación a otra. Sin embargo, el reemplazo  $(\mu, \lambda)$  no es elitista aunque puede convertirse en elitista si se añade a posteriori al mejor de los padres cuando se prevea un descenso de la capacidad de la población.

7. Criterio de parada. El criterio de parada más habitual consiste en establecer un tiempo de cómputo o un número de generaciones fijo. Otras variantes consisten

en realizar la parada cuando ha transcurrido un determinado tiempo sin que se produzca un aumento en la capacidad del mejor de los individuos de la población.

8. Definición de parámetros. Los algoritmos evolutivos tienen un gran número de parámetros: tamaño de la población, frecuencia de las recombinaciones, tamaño de las mutaciones, presión de selección... En algunos casos es necesario realizar unas cuantas pruebas de ajuste para calibrar el algoritmo, en otras ocasiones se permite al algoritmo un cierto grado de auto-calibración durante su ejecución.
9. Validez de los resultados. Como en cualquier otro algoritmo al que se llega a la solución de manera aleatoria, una única ejecución del algoritmo no garantiza la mejor solución posible. Para validar el resultado se recomienda realizar múltiples ejecuciones independientes y comparar sus resultados.

Como ya se ha mencionado, la computación evolutiva tiene diferentes orígenes independientes con ligeras variantes en cada uno de ellos conocidos como algoritmos evolutivos, estrategias evolutivas, programación evolutiva o programación genética.

Los algoritmos evolutivos clásicos pueden verse como una combinación de representaciones de cadenas de bits con combinaciones de bits entre ellos para realizar el cruce y con cambio de bits para implementar la mutación. La selección es de tipo ruleta y el reemplazo generacional es de tipo creación continua.

Las estrategias evolutivas se aplican típicamente a problemas de optimización de parámetros reales. Utilizan mutación gaussiana y estrategias de reemplazo tanto  $(\mu+\lambda)$

como  $(\mu, \lambda)$ . El cruce (históricamente ausente) se realiza, o bien intercambiando componentes, o mediante algún tipo de combinación lineal entre ellos. La característica típica de las estrategias evolutivas reside en la auto-adaptación de la desviación típica de la distribución gaussiana empleada en la mutación.

La programación evolutiva está relacionada con la evolución de los estados de un autómeta para tareas de aprendizaje de las máquinas. Cada padre engendraba mediante mutación a un solo hijo y se empleaban estrategias de tipo  $(\mu+\lambda)$  para reemplazar a la mitad de los individuos. La programación evolutiva actual ha tendido a diferentes representaciones y motores evolutivos y difiere de las estrategias evolutivas en la forma estocástica de implementar el reemplazo de tipo  $(\mu+\lambda)$  y en que nunca utiliza cruce y coincide con ella en el empleo de mutación gaussiana auto-adaptativa.

La programación genética fue la última en aparecer. Tiene aplicación específica en el aprendizaje de las máquinas y en tareas de modelización. Una representación natural es en forma de árboles de análisis sintáctico de expresiones lógicas formales que describen un modelo o un procedimiento. Los operadores de mutación y cruce están adaptados para el trabajo con árboles. El motor evolutivo está tomado de los algoritmos genéticos. La programación genética puede emplearse para hacer una evolución automática de un programa software.

### 3.2.2 Implementación de la programación evolutiva.

De entre las técnicas de programación evolutiva descritas, en los trabajos de esta tesis se ha empleado un algoritmo de programación evolutiva clásica que es el que a continuación se explica con detalle.

De acuerdo con Fogel [107;108] y Bäck y Schwefel [109], el algoritmo de Programación Evolutiva Clásica (PEC) con mutación auto-adaptativa puede describirse según los siguientes pasos, representados también de manera gráfica en la Figura 3-10.

1. Generar una población inicial de  $\mu$  individuos e inicializar el número de generaciones,  $k = 1$ . Cada individuo está formado por una pareja de vectores de valores reales,  $(x_i, \eta_i)$ ,  $\forall i \in \{1, \dots, \mu\}$ , donde las  $x_i$  son las variables objetivo y  $\eta_i$  son las desviaciones típicas de las mutaciones Gaussianas (parámetros estratégicos en los algoritmos evolutivos auto-adaptativos).
2. Evaluar la adecuación de cada individuo  $(x_i, \eta_i)$ ,  $\forall i \in \{1, \dots, \mu\}$ , de la población de acuerdo con la función objetivo  $f(x_i)$ .
3. Cada padre  $(x_i, \eta_i)$ ,  $i = 1 \dots \mu$ , crea un hijo  $(x_i', \eta_i')$  de la siguiente forma:

$$\begin{aligned}
 & \text{for } j = 1 \dots n \\
 & \quad x_i'(j) = x_i(j) + \eta_i(j) N_j(0,1) \\
 & \quad \eta_i'(j) = \eta_i(j) \exp(\tau' N(0,1) + \tau N_j(0,1)) \\
 & \text{end}
 \end{aligned}
 \tag{EC. 3-3}$$



Donde  $N(0,1)$  es una distribución normal unidimensional de media 0 y desviación típica 1. Los factores  $\tau$  y  $\tau'$  son respectivamente  $\left(\sqrt{2\sqrt{n}}\right)^{-1}$  y  $\left(\sqrt{2n}\right)^{-1}$  siendo  $n$  el número de variables a optimizar [109;110].

4. Calcular la adecuación de cada hijo  $(x_i', \eta_i')$ ,  $\forall i \in \{1, \dots, \mu\}$ ,
5. Comparar la conducta de los padres  $(x_i, \eta_i)$  e hijos  $(x_i', \eta_i')$ ,  $\forall i \in \{1, \dots, \mu\}$  dentro de un único conjunto común. Para cada individuo, se eligen  $q$  adversarios al azar para todos los padres y descendientes. En cada comparación si la adecuación del individuo es mejor que la de su oponente, este es marcado como ganador.
6. Seleccionar los  $\mu$  individuos entre los  $(x_i, \eta_i)$  y  $(x_i', \eta_i')$ ,  $\forall i \in \{1, \dots, \mu\}$  que mayor número de victorias tengan, para ser los padres de la siguiente generación.
7. La ejecución del programa finalizará cuando se alcance el criterio de parada. En caso de no ser así,  $k=k+1$  y se retoma el proceso de nuevo desde el paso 3.

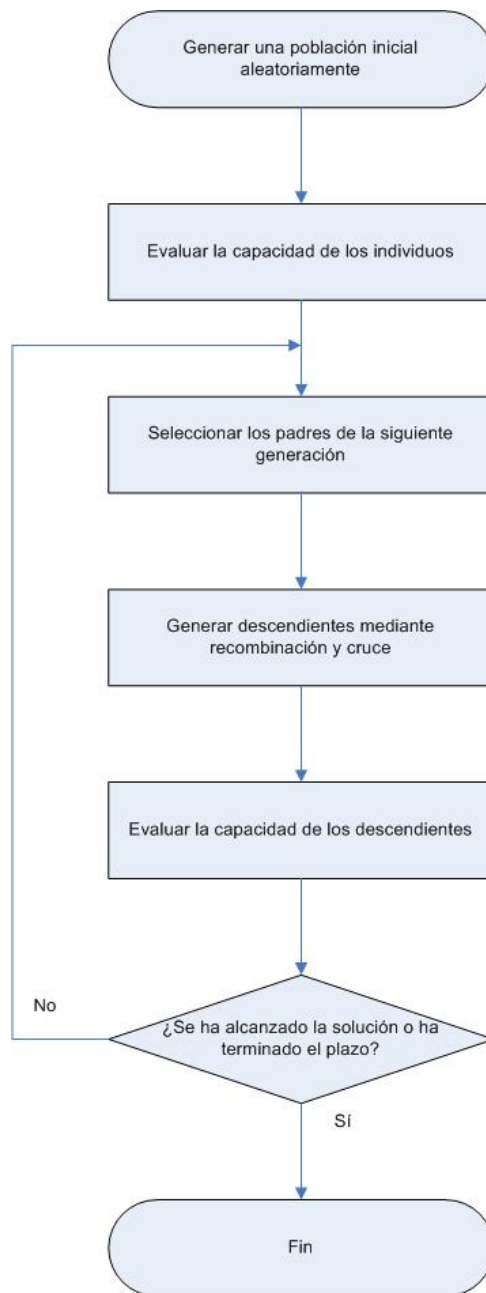


FIGURA 3-10. PASOS DEL ALGORITMO DE PROGRAMACIÓN EVOLUTIVA.

Los detalles particulares de la aplicación de este método a la resolución del problema planteado en esta tesis se encuentran en el capítulo 4.3.

## **4 DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN Y RESULTADOS.**

### **4.1 Respuesta espectral de la concentración de nitrato y nitrito en agua.**

---

Tal y como se ha expresado en el capítulo 2.2, la presencia de elementos en disolución provoca una variación en el comportamiento de la atenuación que sufre un haz de luz al propagarse por la muestra. En este capítulo se muestran los análisis espectrales realizados sobre muestras de agua destilada con diferentes concentraciones de nitrato y nitrito. Se han estudiado las respuestas en el margen de 200 a 800 nm para determinar las zonas en las que se produce la absorción, los máximos de absorción y se han buscado las relaciones predichas en el capítulo 2.2 entre la transmitancia y la concentración.

#### **4.1.1 Análisis de la concentración de nitrato.**

Para determinar el margen de longitudes de onda de influencia se han realizado medidas de la variación de la transmitancia al añadir distintas concentraciones de sales de nitrato disueltas. En las pruebas realizadas, se ha tomado como blanco la transmisión a través de una muestra de agua destilada, correspondiendo esta situación al 100% del valor de la transmitancia. El resto de valores de transmitancia se han calculado de acuerdo con la Ec. 3-1. Las pruebas se han realizado empleando el equipamiento descrito en el capítulo

3, utilizando la cubeta de cuarzo para situar la muestra. La Figura 4-1 muestra las representaciones obtenidas en el margen desde 200 a 800 nm para concentraciones de nitrato desde 0,7 hasta 352 ppm.

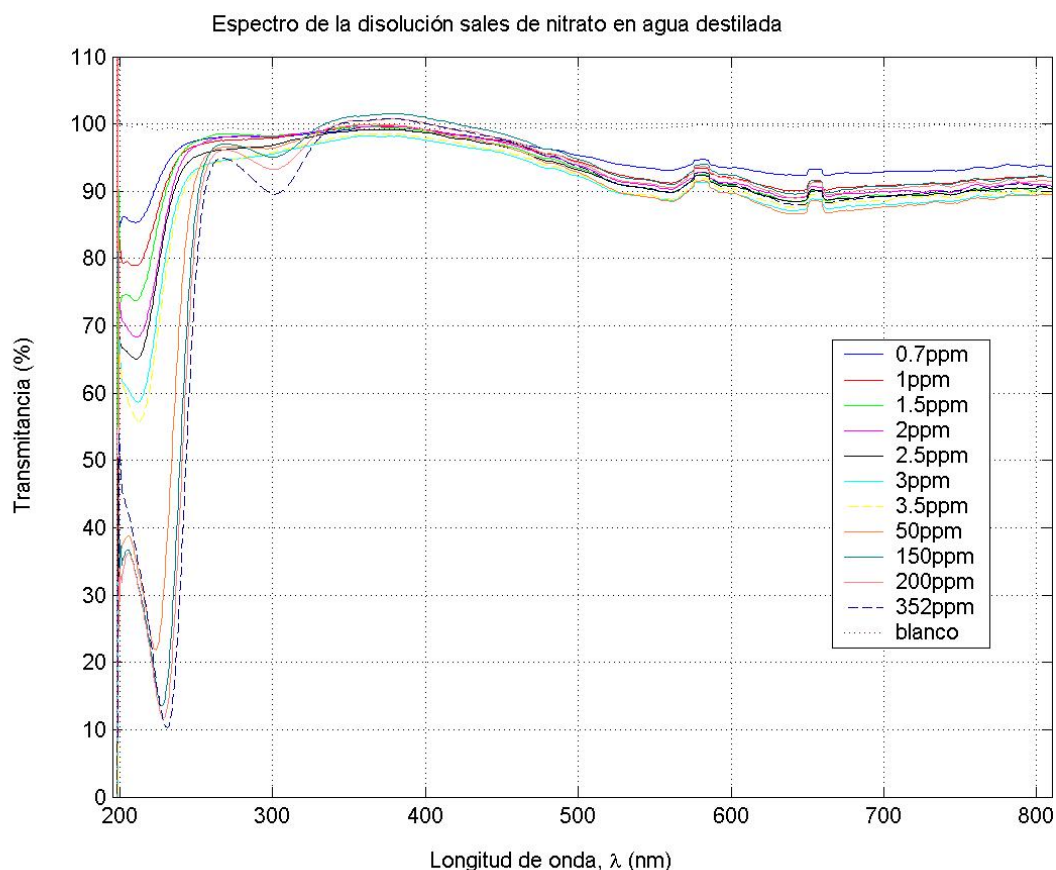


FIGURA 4-1 ESPECTRO DE DISTINTAS CONCENTRACIONES DE NITRATOS

Según muestra la Figura 4-1, la presencia de nitrato se observa entre 200 y 250 nm. También, y como era de esperar a la vista de la Ec. 2-38, cuanto mayor es la concentración de nitrato, mayor es la absorción producida en el medio y, por tanto, menor es el valor de la transmitancia. Los valores obtenidos para la transmitancia varían

desde el 100 % para el agua destilada (blanco) hasta el 10% cuando las concentraciones de nitrato están alrededor de 350 ppm. Un detalle importante de las curvas como las mostradas en la Figura 4-1 es que idealmente no se cruzan entre sí, es decir, para cada longitud de onda considerada, existe un único valor de transmitancia asociado a cada valor de concentración de nitrato. La Figura 4-2 representa un detalle de la zona del espectro donde se observa la mayor sensibilidad. Además de una relación directa con la transmitancia, en esta figura se revela una dependencia entre la concentración y el valor de la longitud de onda para la cual se produce la máxima absorción de señal.

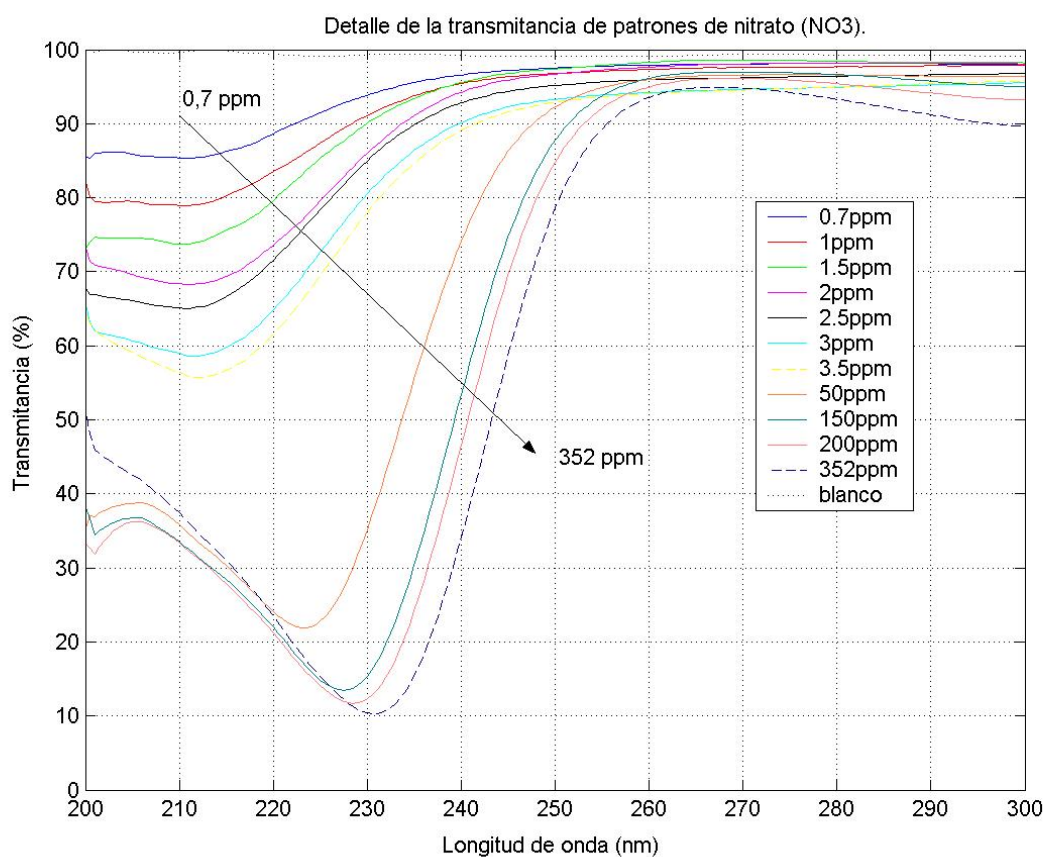


FIGURA 4-2 DETALLE DE LA RESPUESTA ESPECTRAL DE LA FIGURA 4-1

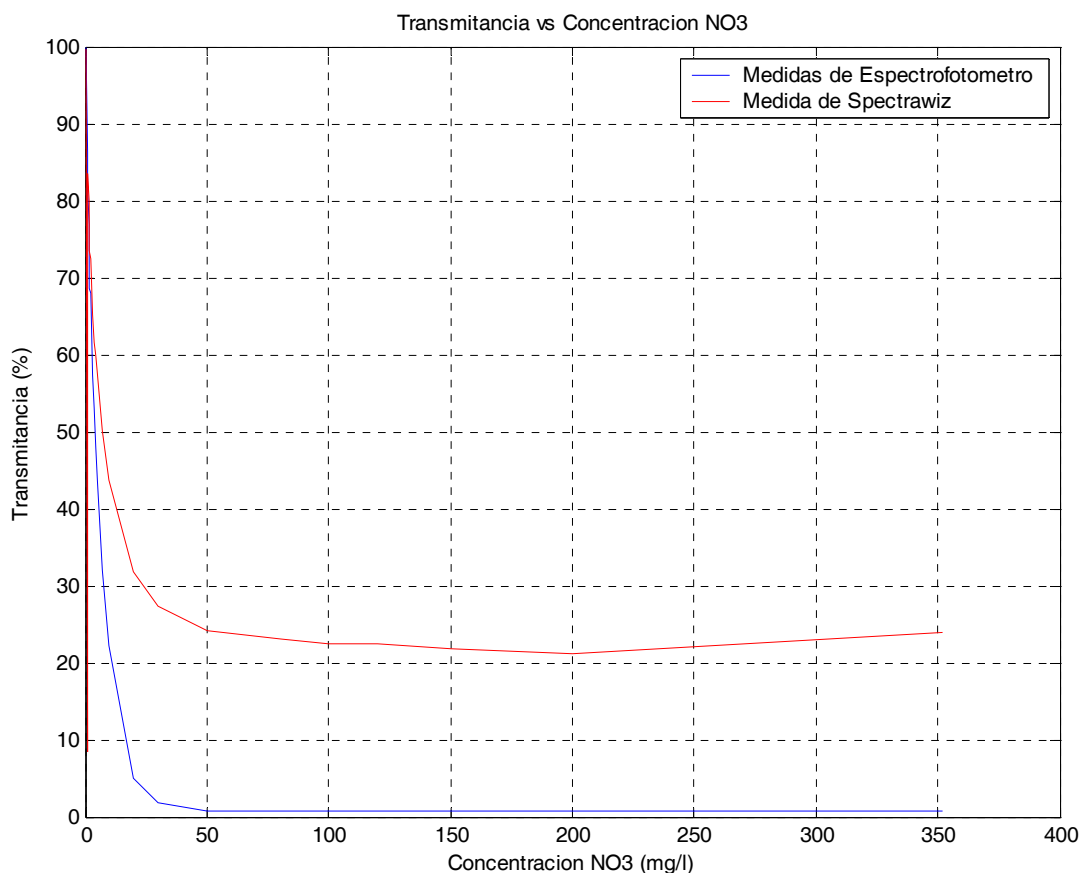


FIGURA 4-3 TRANSMITANCIA EN FUNCIÓN DEL NIVEL DE CONCENTRACIÓN DE NITRATO

Los resultados de la transmitancia se han contrastado con los ofrecidos por un espectrofotómetro de precisión modelo 8452A de HP, disponible en el Laboratorio de Química Analítica. La Figura 4-3 muestra la variación de la transmitancia con la concentración medida a  $\lambda = 220$  nm empleando ambos equipamientos. Se ha elegido este valor por utilizarse habitualmente para la realización de medidas de concentración de nitrato.

Si bien ambas curvas no son coincidentes en los valores de transmitancia ofrecidos, sí que son muy similares en el comportamiento mostrado por la variación de la transmitancia. De acuerdo con la figura anterior, ambos equipos permitirían medir concentraciones de hasta aproximadamente 50 ppm puesto que a partir de este valor la transmitancia es aproximadamente constante. La razón de esta limitación se encuentra en la longitud de onda elegida para representar la variación de la transmitancia. En la Figura 4-2 puede comprobarse como, a la longitud de onda de 220 nm, las curvas correspondientes a las concentraciones de 50, 150, 200 y 352 ppm son prácticamente coincidentes. De acuerdo con esta figura, dependiendo del margen de concentraciones a medir, debería elegirse una longitud de onda distinta a la cual tomar el valor de la transmitancia.

Otra cuestión a probar con las medidas experimentales es la relación logarítmica entre la concentración y la transmitancia indicada en el capítulo 2.2 y el punto hasta el cual las no linealidades afectan al cumplimiento de la ley de Beer-Lambert. Para ello se ha representado en la Figura 4-4 en escala logarítmica la concentración de nitrato.

A la vista de la Figura 4-4 se observa una zona hasta aproximadamente 50 ppm de concentración donde la variación puede aproximarse por una recta. Sin embargo, a partir de este límite se produce una pérdida de linealidad que revela nuevamente el límite de 50 ppm debido a la elección del valor de  $\lambda = 220$  nm.

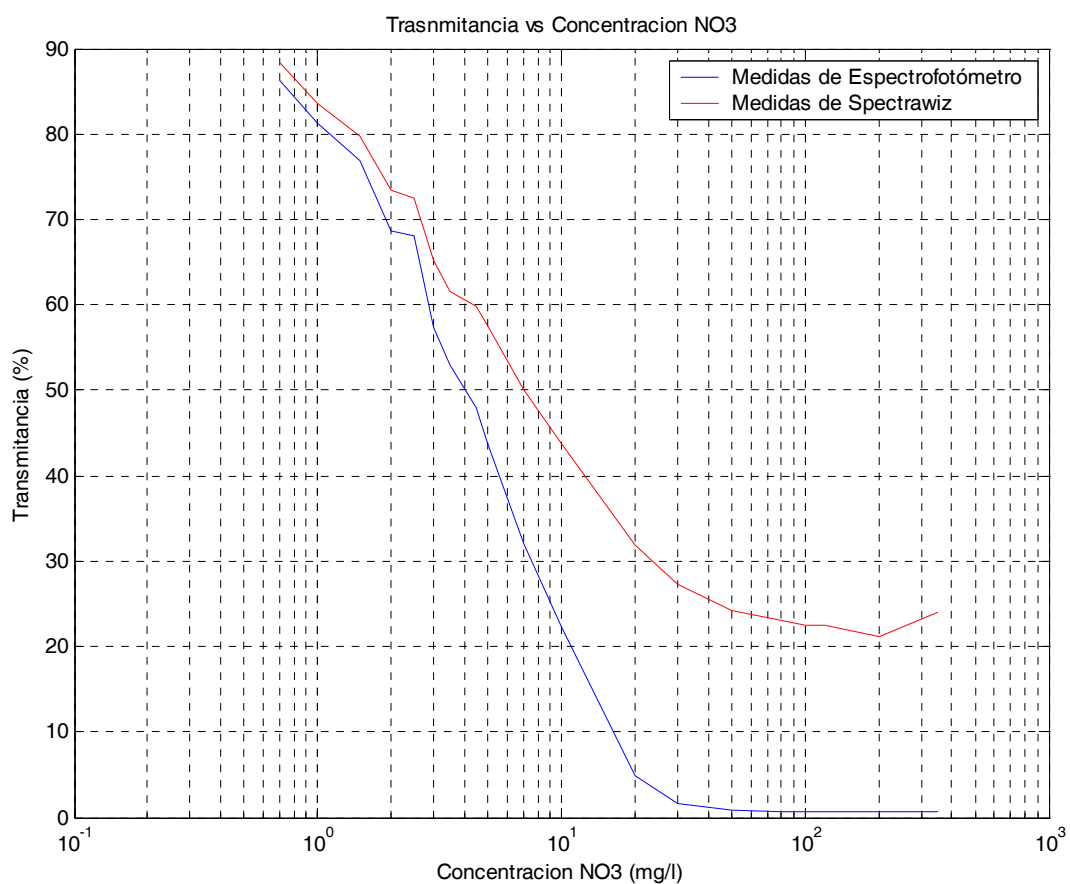


FIGURA 4-4. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE TRANSMITANCIA CON LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO

Si se modelan los resultados obtenidos con el espectrofotómetro óptico Stellarnet y el software Spectrawiz descritos en el capítulo 3.1 mediante un polinomio de segundo orden en función del logaritmo de la concentración de nitratos se obtiene la siguiente ecuación.

$$T(220) = 10,623 \cdot (\log(N))^2 - 52,866 \cdot \log(N) + 86,142 \quad \text{EC. 4-1}$$



Donde  $T(220)$  es el valor de la transmitancia en tanto por ciento medida a 220 nm y  $N$  el valor de la concentración en mg/l. De la ecuación anterior se deduce la transmitancia a partir de la concentración con una desviación de  $\pm 2.3\%$ .

Una vez comprobada la relación entre la transmitancia y el logaritmo de la concentración, cabe preguntarse si existe otro valor de  $\lambda$  para el cual sea posible medir con mayor linealidad cualquier valor de concentración.

Considerando la Figura 4-2, las concentraciones por debajo de 50 ppm son distinguibles tomando una longitud de onda entre 210 y 225 nm, mientras que las concentraciones por encima de 50 ppm son más fácilmente distinguibles entre 225 y 240 nm. La Figura 4-5 representa las transmitancias correspondientes a las muestras de la Figura 4-1 medidas a 220, 230, 240 y 250 nm. Como puede verse en la misma, para los valores de longitud de onda elegidos, no se aprecia ninguna curva que relacione de manera aproximadamente lineal el rango de concentraciones seleccionado. Igualmente interesaría que la curva elegida poseyera una pendiente elevada para que ante pequeñas variaciones en la concentración se obtuvieran incrementos significativos en la transmitancia. Las representaciones correspondientes a 220 y 230 nm son las que mayor pendiente poseen. Como ya se dedujo de la Figura 4-2, la curva de 220 nm muestra una variación lineal en los valores más bajos de concentración (desde 0 a 50 ppm), mientras que la curva de 230 nm presenta un aspecto lineal entre 5 y 100 ppm. La respuesta de 240 nm posee este aspecto lineal para concentraciones mayores de 20 ppm. Por último,

la de 250 nm, más alejada de las longitudes de onda donde se produce la máxima absorción parece escasamente útil.

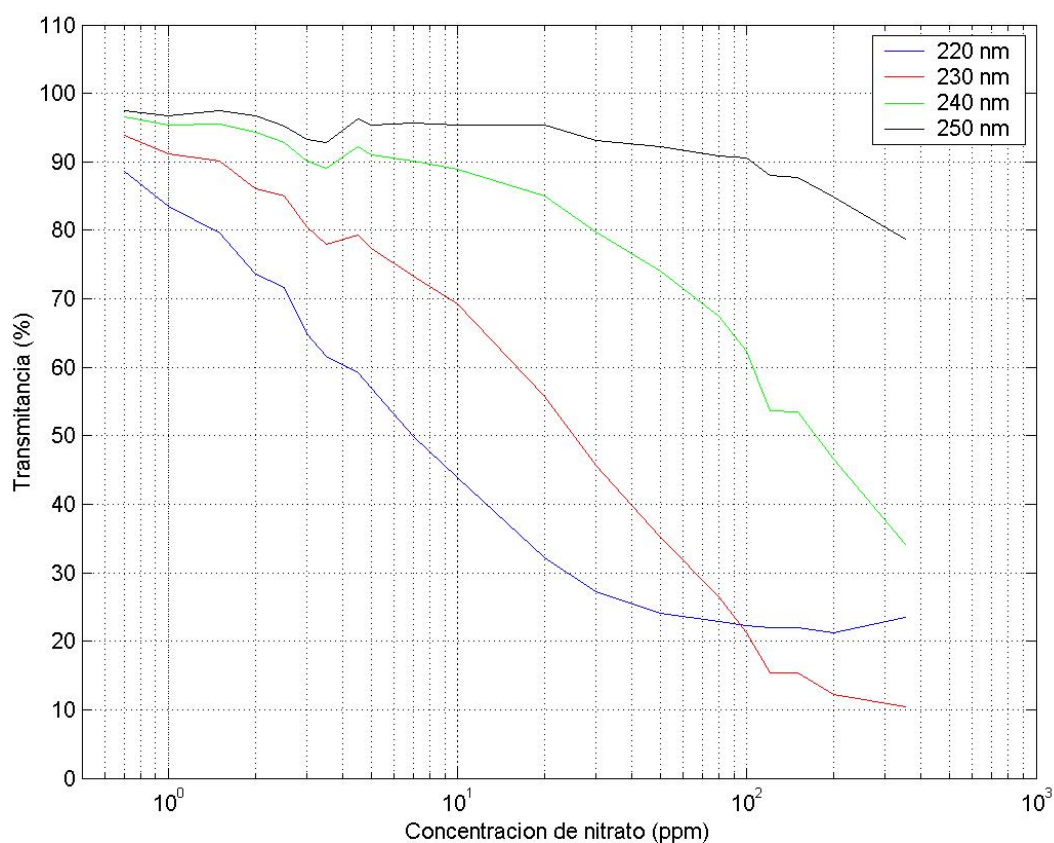


FIGURA 4-5. VARIACIÓN DE LA TRANSMITANCIA CON LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO MEDIDA A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA.

El mismo proceso seguido para la obtención de la relación a 220 nm dada por la Ec. 4-1 puede aplicarse al resto de longitudes de onda mostradas en la Figura 4-5. En este caso se obtienen las siguientes relaciones.

$$T(230) = -4,792 \cdot (\log(N))^2 - 24,466 \cdot \log(N) + 93,603 \quad \text{Ec. 4-2}$$

$$T(240) = -11,148 \cdot (\log(N))^2 + 5,532 \cdot \log(N) + 94,072 \quad \text{Ec. 4-3}$$

$$T(250) = -3,242 \cdot (\log(N))^2 + 2,828 \cdot \log(N) + 95,834 \quad \text{Ec. 4-4}$$

La Figura 4-6 muestra las curvas de ajuste mostradas en las ecuaciones Ec. 4-1 a Ec. 4-4, en línea continua, junto con los puntos medidos (\*).

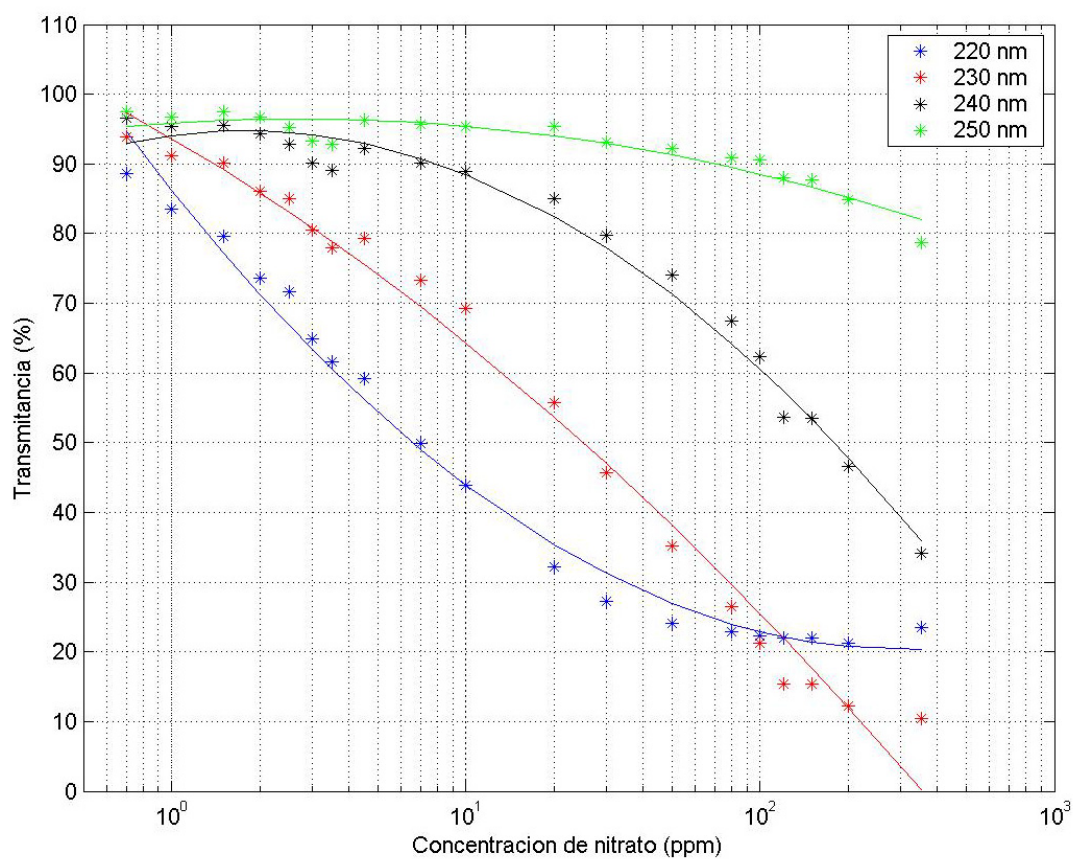


FIGURA 4-6 APROXIMACIÓN POLINÓMICA DE LA TRANSMITANCIA.

Otro efecto apreciado en las medidas es el desplazamiento del máximo de absorción en función de la concentración de nitrato disuelta. La Figura 4-7 representa la variación de la longitud de onda de máxima absorción en función de la concentración de nitrato. Se han realizado 14 series de medidas en diferentes días y en distintos valores. Los puntos indicados en la gráfica corresponden a la media de las longitudes de onda obtenidas en las distintas series.

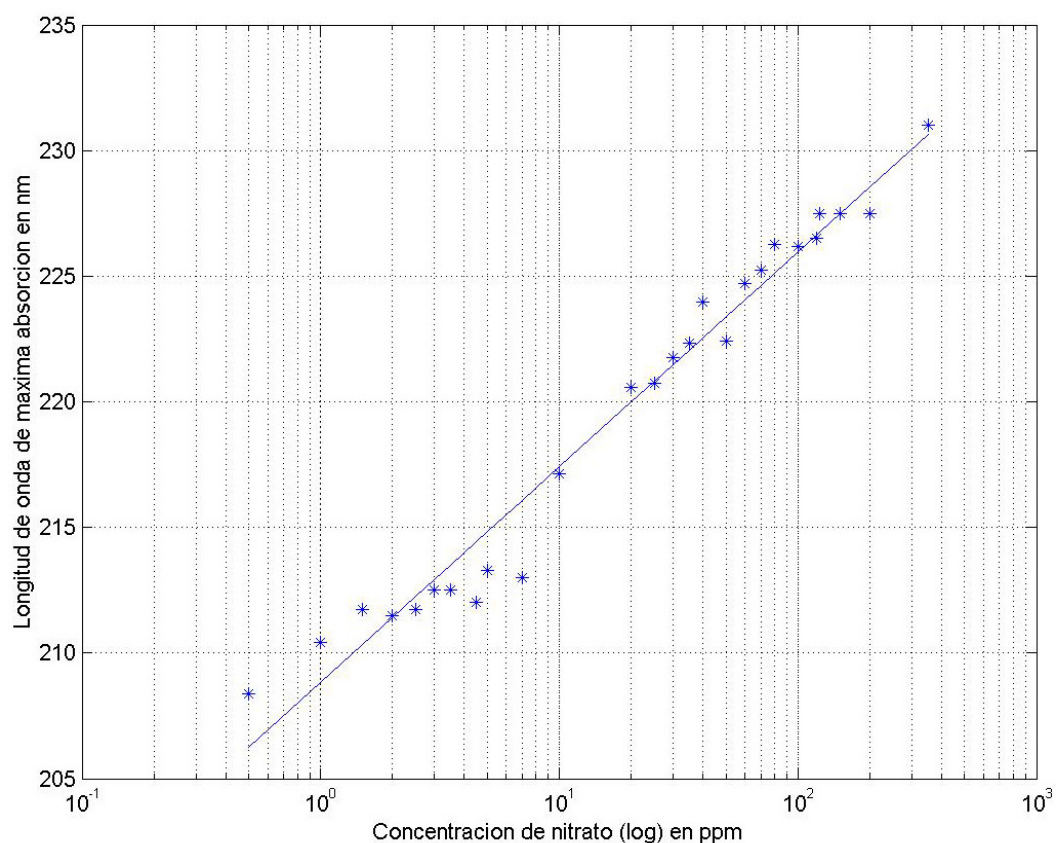


FIGURA 4-7. LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO.

Tal y como muestra la Figura 4-7 existe una relación entre la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorción y la concentración de nitrato disuelto presente. Esta relación no es lineal con la concentración sino que depende de manera logarítmica de la misma, al igual que ha sucedido con el valor de la transmitancia medida a una única longitud de onda. Para el rango de concentraciones estudiado (desde 0,5 hasta 352 ppm) los valores de los máximos de absorción están en longitudes de onda desde 207 a 231 nm. Las medidas se han ajustado mediante una recta, mostrada también en la Figura 4-7, cuya expresión se muestra a continuación:

$$\lambda_{\max} (nm) = 8,560 \log N + 208,844 \quad \text{EC. 4-5}$$

En la ecuación anterior,  $\lambda_{\max}$  es la longitud de onda a la cual se produce la máxima absorción y N la concentración de nitrato en ppm.

Según la Figura 4-5, es posible encontrar diferentes rangos de longitudes de onda donde la relación con el logaritmo de la concentración es aproximadamente lineal. Estas zonas, si se comparan adicionalmente con la Figura 4-7, coinciden aproximadamente con las longitudes de onda en torno a las cuales se producen los máximos de absorción para cada concentración de nitrato dada. Por ejemplo, a 220 nm se produce el máximo de absorción cuando la concentración es aproximadamente de 20 ppm. Hasta ese valor de concentración, la curva de color azul de la Figura 4-5 sigue una relación aproximadamente lineal con el logaritmo de la concentración. La curva tomada a 230 nm guarda una relación más lineal para valores mayores de concentración, mientras que las tomadas a longitudes de onda de 240 o 250 nm, valores que se encuentran más

alejados de los máximos de absorción aunque dentro de la zona de influencia del nitrato, muestran comportamientos claramente más alejados de la linealidad. De todo esto se deduce que las medidas de transmitancia conducentes a la obtención de la concentración deben realizarse en torno a las longitudes de onda para las cuales se producen los máximos de absorción.

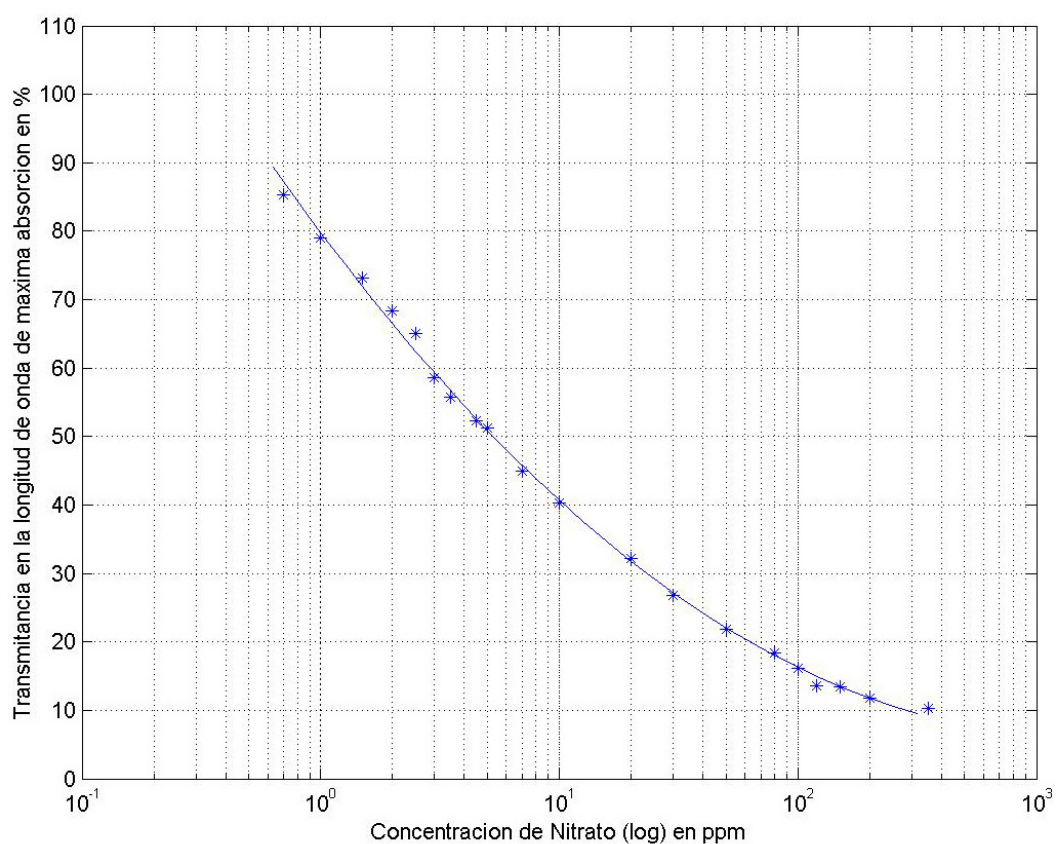


FIGURA 4-8. VARIACIÓN DE LA TRANSMITANCIA A LA LONGITUD DE ONDA DE ABSORCIÓN MÁXIMA CON LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO.

Si se toman dichas medidas justo en el máximo de absorción puede representarse la Figura 4-8. En ella se aprecian las transmitancias medidas a la longitud de onda de

máxima absorción junto con la curva de segundo orden de ajuste que se indica a continuación.

$$T_{\max} (\%) = 7,349 \cdot (\log N)^2 - 46,449 \cdot \log N + 79,776 \quad \text{Ec. 4-6}$$

En la ecuación anterior,  $T_{\max}$  representa la transmitancia medida a la longitud de onda de máxima absorción en % y N la concentración de nitrato en ppm.

#### 4.1.2 Análisis de la concentración de nitrito

Los límites legales para la concentración de nitrito en agua son mucho menores que los de la concentración de nitrato, 0,5 mg/l frente a 50 mg/l, [111;112] y aún así, la mayor atención se presta tradicionalmente a este último. Esto es debido a que la existencia de nitrito suele ser una corta etapa intermedia en el ciclo del nitrógeno, previa a su transformación a nitrato [37]. Sin embargo, puesto que existen situaciones en las que todavía no se ha producido la oxidación del nitrito a nitrato, y su presencia interfiere la medida de nitrato, resulta de interés conocer no solo el comportamiento del nitrato como se ha hecho en el capítulo anterior, sino también el del nitrito.

En este apartado se estudia la respuesta espectral del nitrito siguiendo los mismos pasos descritos en el capítulo anterior para el estudio del nitrato. En primer lugar se ha obtenido la transmitancia de varias muestras que contienen distintas concentraciones de nitrito en el rango de 200 a 800 nm. Posteriormente se ha representado la variación del máximo de absorción en estas muestras con respecto a la concentración de nitrito.

La siguiente figura muestra la respuesta obtenida para cuatro concentraciones de nitrito analizadas: 10, 20, 50 y 100 ppm.

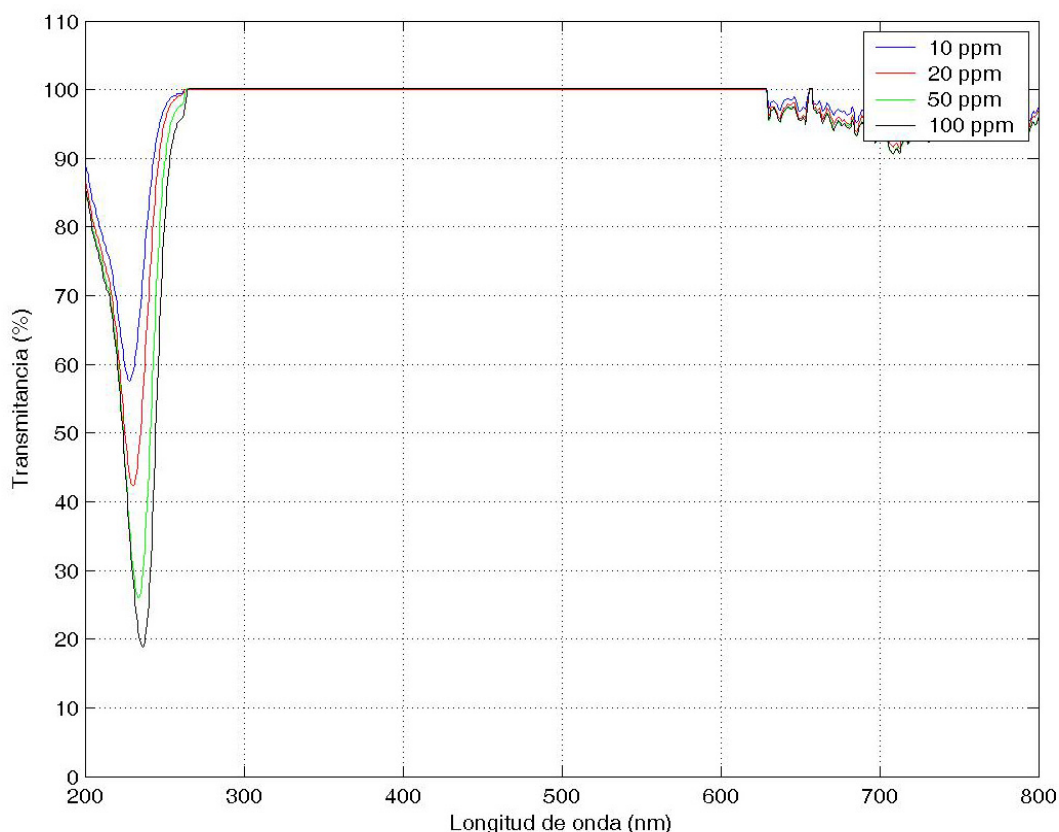


FIGURA 4-9. ESPECTRO DE DISTINTAS CONCENTRACIONES DE NITRITO ( $\text{NO}_2$ )

En la Figura 4-9 se revela un comportamiento muy similar al mostrado por los nitratos. Las longitudes de onda donde se produce la absorción se encuentran igualmente entre 200 y 300 nm. Sin embargo, si se analizan con un poco más de detalle los resultados mostrados en esta última figura y en la Figura 4-1, se observa que, a igual concentración de nitratos y nitritos (por ejemplo 50 ppm), a la longitud de onda de máxima absorción, la transmitancia para el caso de los nitratos se encuentra en torno al 22% mientras que



para el caso de los nitritos se encuentra en torno al 26 %. Si se representa la respuesta espectral anterior con mayor detalle en torno a las longitudes de onda de interés se obtiene la siguiente figura.

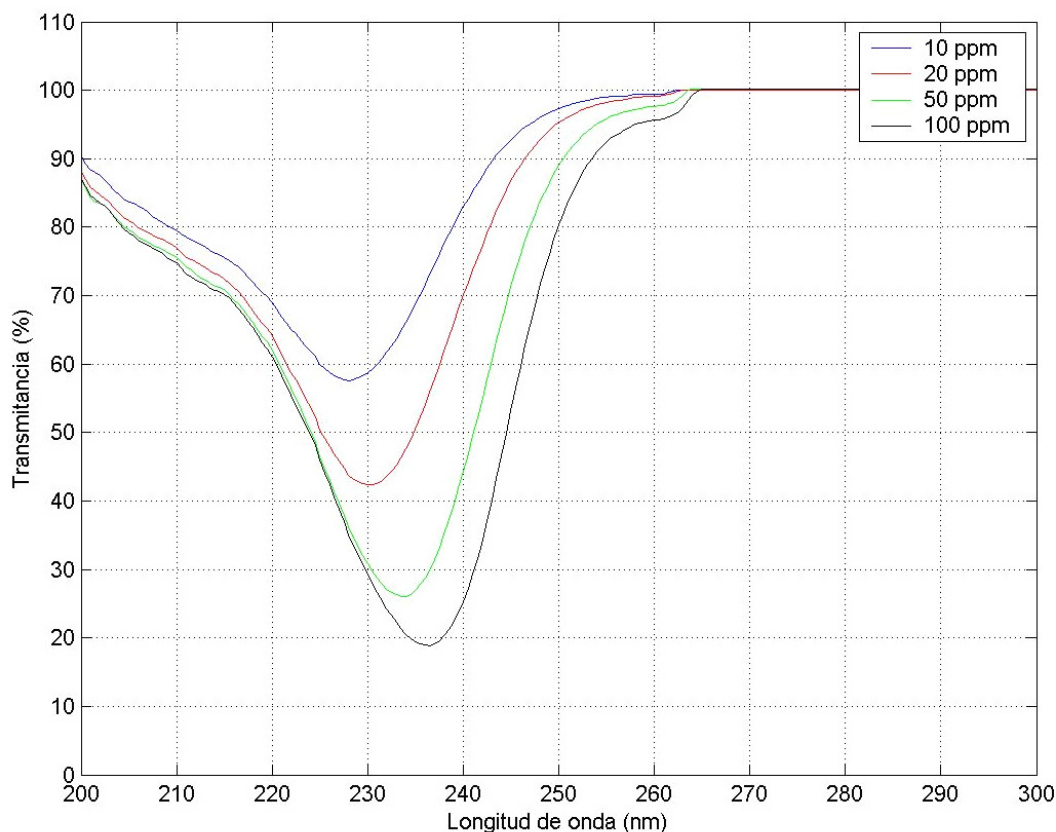


FIGURA 4-10. DETALLE DE LA RESPUESTA ESPECTRAL DE LA FIGURA 4-9.

Nuevamente, al igual que sucedía en el caso de los nitratos, las curvas no se cruzan entre sí, por lo que a una determinada longitud de onda, para un determinado valor de transmitancia corresponde un único valor de concentración. Sin embargo, el valor óptimo de longitud de onda de medida para determinar la concentración es diferente al obtenido para los nitratos. En aquella ocasión, dependiendo de las concentraciones

resultaba más adecuado tomar la transmitancia entre 220 y 230 nm. Sin embargo, si se emplean estos mismos valores de longitud de onda, para el primero de ellos se observa muy poca variación en la Figura 4-10 entre las transmitancias medidas para 20 hasta 100 ppm y para el segundo de ellos entre las transmitancias correspondientes a las concentraciones de 50 y 100 ppm. A la vista de la Figura 4-10 resulta más conveniente medir la transmitancia en torno a 235-240 nm, donde se producen significativas variaciones entre las diferentes curvas. Si se consideran las transmitancias a la longitud de onda de máxima absorción se obtiene la Figura 4-11.

La variación mostrada en la Figura 4-11 se ha ajustado mediante el siguiente polinomio, donde  $T_{\max}$  es el valor de la transmitancia medida a la longitud de onda de máxima absorción y  $N$  la concentración de nitrito en ppm :

$$T_{\max} (\%) = 19,272 (\log N)^2 - 96,814 \log N + 135,292 \quad \text{EC. 4-7}$$

En la Figura 4-10 se aprecia igualmente el efecto del desplazamiento de la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorción al variar la concentración de nitrito. La relación entre ambas es nuevamente logarítmica como queda patente en la Figura 4-12. La principal diferencia con respecto a los valores alcanzados por los nitratos se encuentra en las longitudes de onda para las cuales se alcanza el máximo de absorción. En el caso de los nitratos, para los valores de concentración estudiados, los máximos de absorción se alcanzaban desde 207 a 230 nm (Figura 4-7). Para los nitritos, en rangos de concentración similares, extrapolando las curvas obtenidas, los máximos de absorción se alcanzan desde 225 a 240 nm. A la vista de estos datos queda patente que existe una

zona común de longitudes de onda donde ambos presentan máximos de absorción aunque para diferentes valores de concentración.

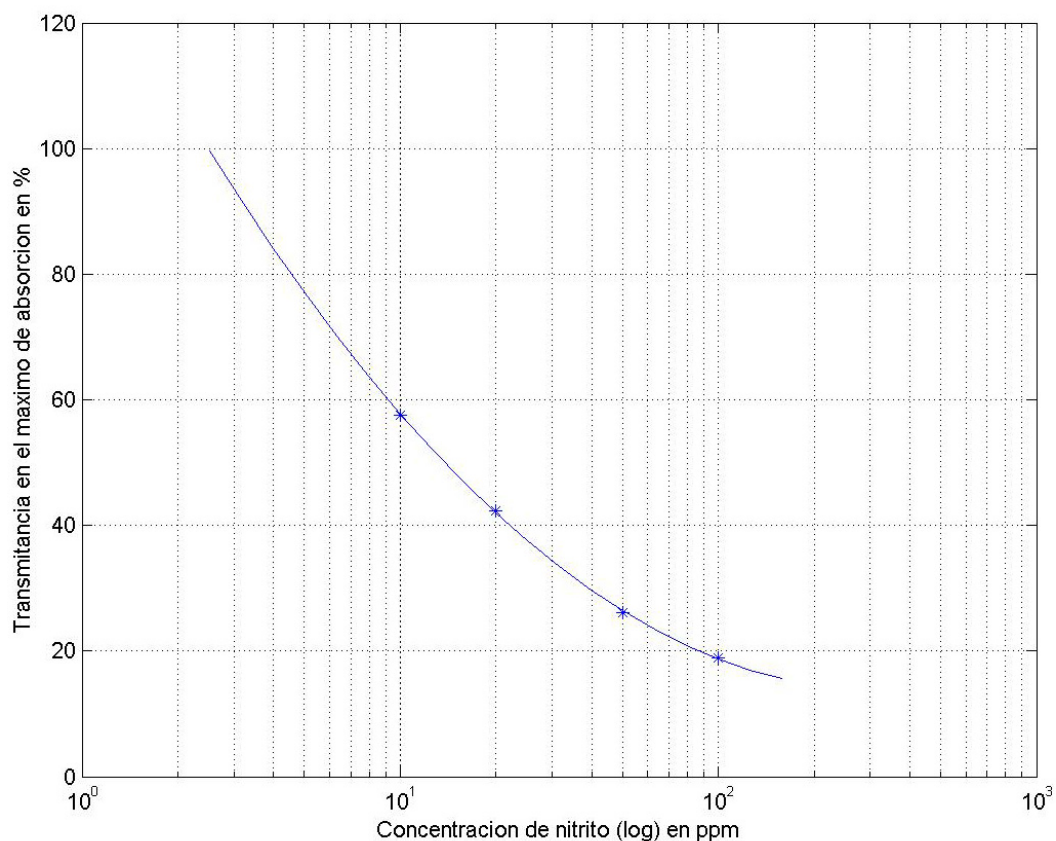


FIGURA 4-11. VARIACIÓN DE LA TRANSMITANCIA CON LA CONCENTRACION DE NITRITO MEDIDA A LA LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN.

Nitritos y nitratos comparten una zona común del espectro de longitudes de onda en la que muestran sus efectos sobre la transmitancia. Es decir, existe una interferencia entre ambos compuestos. La consecuencia de esta interferencia, como ya se había indicado en el capítulo 2.3, es que no es posible determinar la concentración de los dos compuestos a partir de una única medida bien sea esta la transmitancia a una única longitud de onda

o bien sea el valor de la longitud de onda de máxima absorción. Sin embargo, ambas respuestas son significativamente distintas, por lo que a partir de su análisis completo sí que es posible determinar la presencia de uno u otro compuesto y en qué concentración.

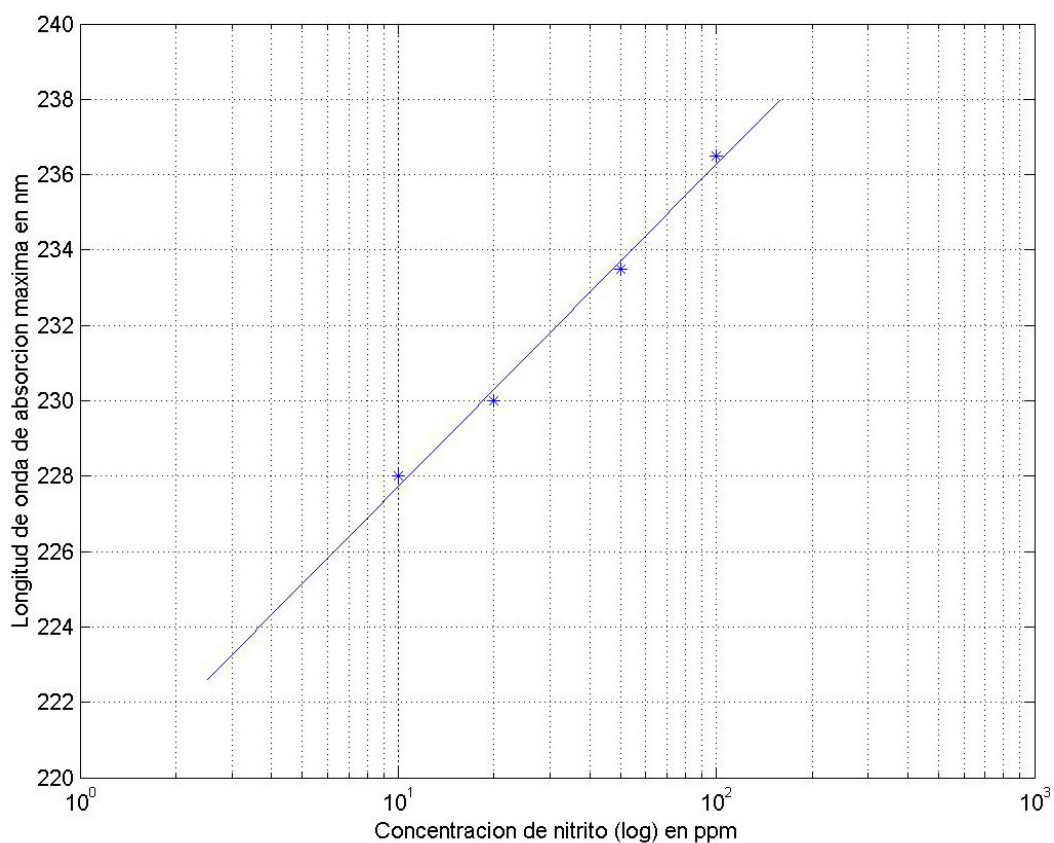


FIGURA 4-12. VARIACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA DE ABSORCIÓN MÁXIMA CON LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO.

La variación de la Figura 4-12 se ha ajustado de igual manera que en el caso de los nitratos mediante la siguiente recta donde  $\lambda_{\text{max}}$  es la longitud de onda a la que se produce la absorción máxima en nm y N la concentración de nitrato en ppm:

$$\lambda_{\max}(nm) = 8,540 \log N + 219,189 \quad \text{EC. 4-8}$$

A lo largo de este capítulo se han obtenido las relaciones entre las concentraciones de nitrito y nitrato y la longitud de onda de máxima absorción y el valor de la transmitancia a dicha longitud de onda. Este estudio ha ofrecido un conocimiento amplio de las respuestas que permitirá, a lo largo del próximo capítulo, modelarlas matemáticamente de manera precisa.

## 4.2 Modelado de la transmitancia

---

La realización de las medidas descritas en el capítulo anterior es un proceso lento y laborioso. Del análisis de los resultados se han deducido los comportamientos de nitratos y nitritos en cuanto a valores mínimos de transmitancia y longitudes de onda a las que se producen dichos valores mínimos. Para poder disponer de la mayor variedad de respuestas, sin necesidad de realizar todo el proceso de preparación de las muestras, se ha buscado una forma analítica de obtenerlas. La obtención de un modelo adecuado para la transmitancia es de suma importancia puesto que permitirá simular el comportamiento de la variación de la concentración sin necesidad de realizar numerosas pruebas en el laboratorio.

La respuesta espectral de cada concentración de nitrato o nitrito se ha modelado mediante una combinación de dos funciones: Fermi y Gaussiana. La elección de este tipo de funciones no es casual: los procesos de emisión espontánea y absorción de luz en fuentes de luz basadas en semiconductores están gobernados por funciones de Fermi y las fuentes de luz que utilizan estos procesos habitualmente se modelan mediante funciones Gaussianas. Sin embargo, sí que resulta novedosa su utilización conjunta, puesto que la elección tradicional es decantarse por una u otra función.

La función de Fermi sigue la siguiente expresión:

$$f_F(x) = A_1 \sqrt{x} e^{-\frac{x}{\sigma_1}} \quad \text{EC. 4-9}$$

En la Ec. 4-9, las constantes  $A_1$  y  $\sigma_1$  controlan el valor máximo y la anchura a amplitud mitad. El máximo de la función se alcanza cuando  $x = \frac{\sigma_1}{2}$  y su valor es

$$f_{F_{\max}} = A_1 \sqrt{\sigma_1} e^{-\frac{1}{2}}.$$

La expresión correspondiente a una función de tipo gaussiano es la siguiente:

$$f_G(x) = A_2 e^{-\left(\frac{x}{\sigma_2}\right)^2} \quad \text{EC. 4-10}$$

En la Ec. 4-10, las constantes  $A_2$  y  $\sigma_2$  controlan el valor máximo y la anchura a amplitud mitad. El máximo de la función se alcanza cuando  $x = 0$  y su valor es  $A_2$ . Si se representan las ecuaciones anteriores tomando todas las constantes indicadas iguales a la unidad se obtiene la Figura 4-13 donde para mayor comodidad en la comparación con la transmitancia de nitratos y nitritos se ha representado  $1-f_G$  y  $1-f_F$ .

La forma que presentan estas funciones desde su valor máximo (mínimo en la representación) en adelante es similar a la que poseen las curvas de transmitancia mostradas en la Figura 4-1 o en la Figura 4-9.

La transmitancia no es simétrica con respecto al valor de longitud de onda de absorción máxima. Para longitudes de onda por debajo de este máximo se ha empleado como modelo una función de Fermi, mientras que para longitudes de onda por encima del valor máximo se ha empleado una gaussiana.

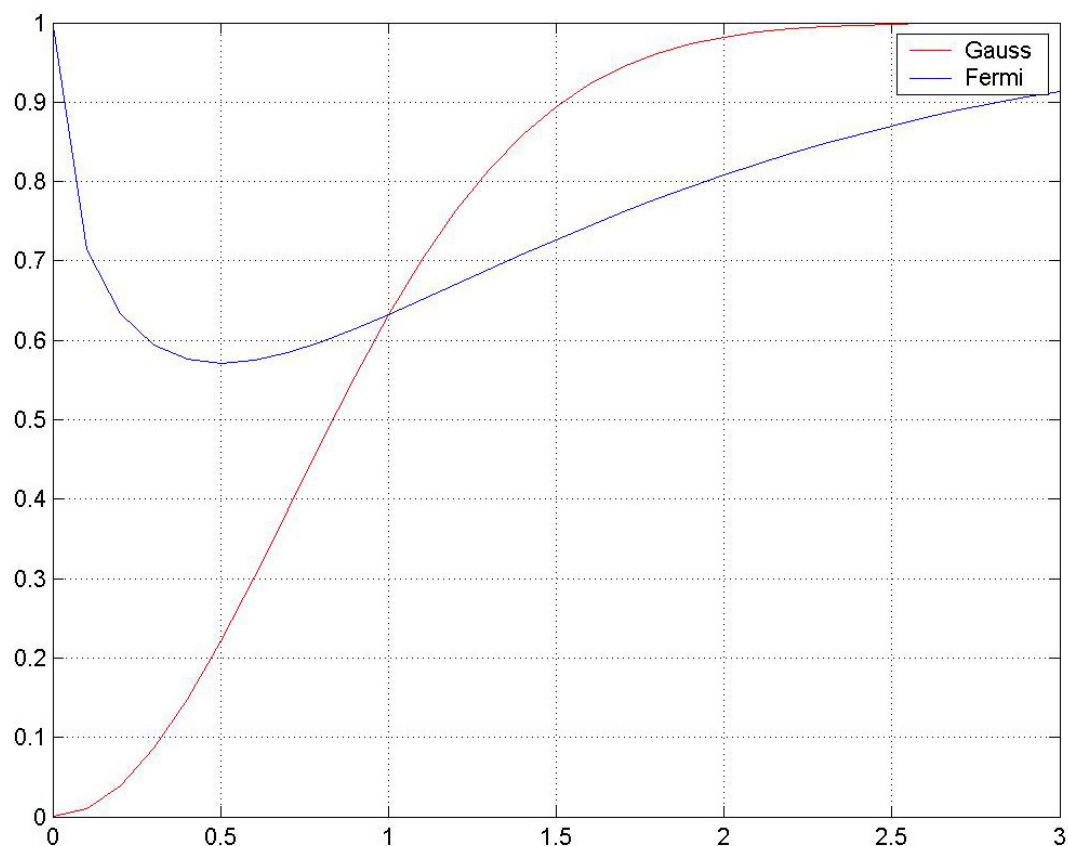


FIGURA 4-13. COMPARACIÓN DE LAS FUNCIONES DE FERMI Y GAUSSIANA.

Para realizar el ajuste es necesario encontrar los parámetros adecuados de cada distribución. A modo de ejemplo se ilustra el modelado del patrón de 100 ppm de nitrito ya mostrado con anterioridad. Se ha elegido esta muestra de nitrito por tener el mayor margen de longitudes de onda por debajo del máximo de absorción de todas las disponibles.



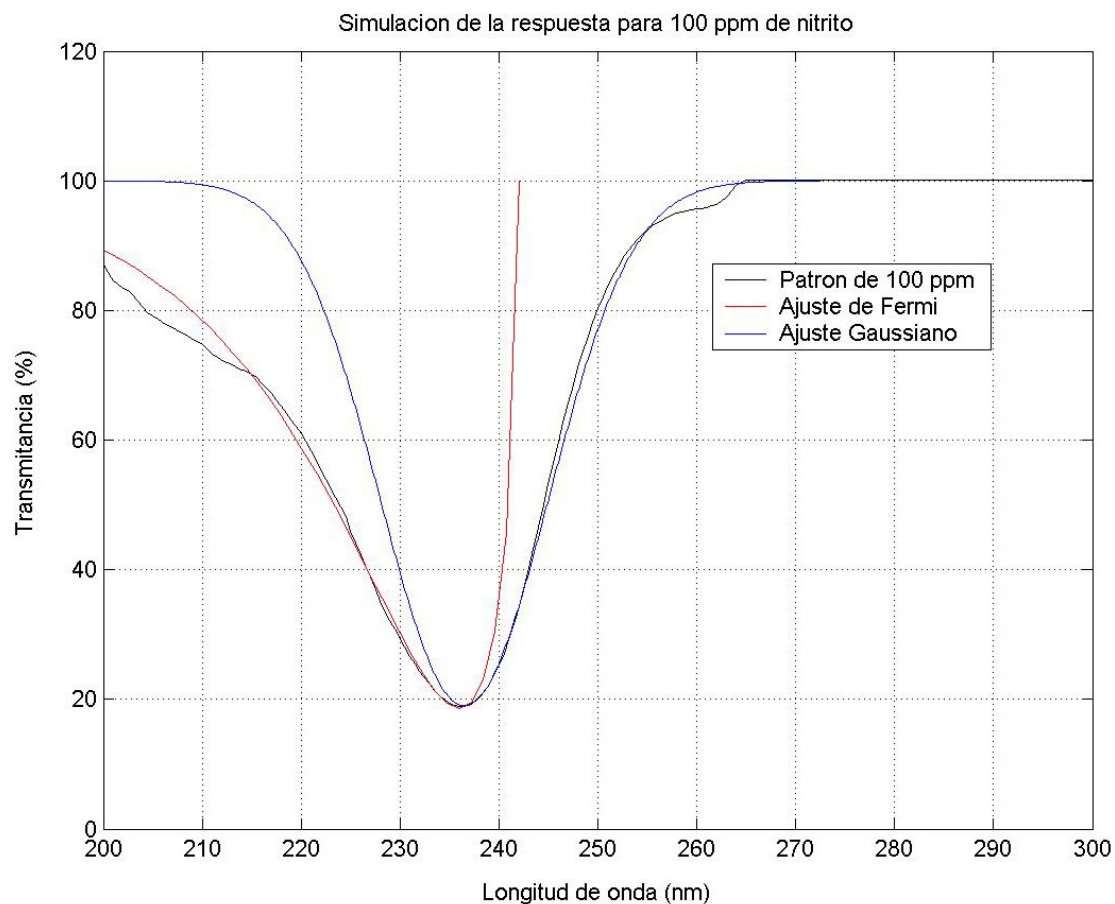


FIGURA 4-14. MODELADO DEL PATRÓN DE NITRITO DE 100 PPM.

Según la Figura 4-14, el ajuste de Fermi (línea roja) funciona de manera adecuada por debajo de la longitud de onda de máxima absorción mientras que el ajuste de Gauss (línea azul) funciona correctamente por encima de dicha longitud de onda.

Las ecuaciones que permiten modelar la transmitancia, en función de su valor en la longitud de onda de máxima absorción ( $T_{\min}$ ) y de la longitud de onda para la que se produce ( $\lambda_{\max}$ ), son:

$$T(\%) = \begin{cases} 100 \left[ 1 - \frac{100 - T_{\min}(\%)}{100\sqrt{\sigma_1}e^{-0.5}} \sqrt{\left(\lambda_{\max} + \frac{\sigma_1}{2} - \lambda\right)} e^{-\left(\frac{\lambda_{\max} + \frac{\sigma_1}{2} - \lambda}{\sigma_1}\right)} \right] & \lambda < \lambda_{\max} \\ 100 \left[ 1 - \frac{100 - T_{\min}(\%)}{100} e^{-\left(\frac{\lambda - \lambda_{\min}}{\sigma_2}\right)} \right] & \lambda > \lambda_{\max} \end{cases} \quad \text{Ec. 4-11}$$

La Figura 4-15 muestra la simulación de la transmitancia para 10 concentraciones de nitrito desde 10 ppm hasta 100 ppm.

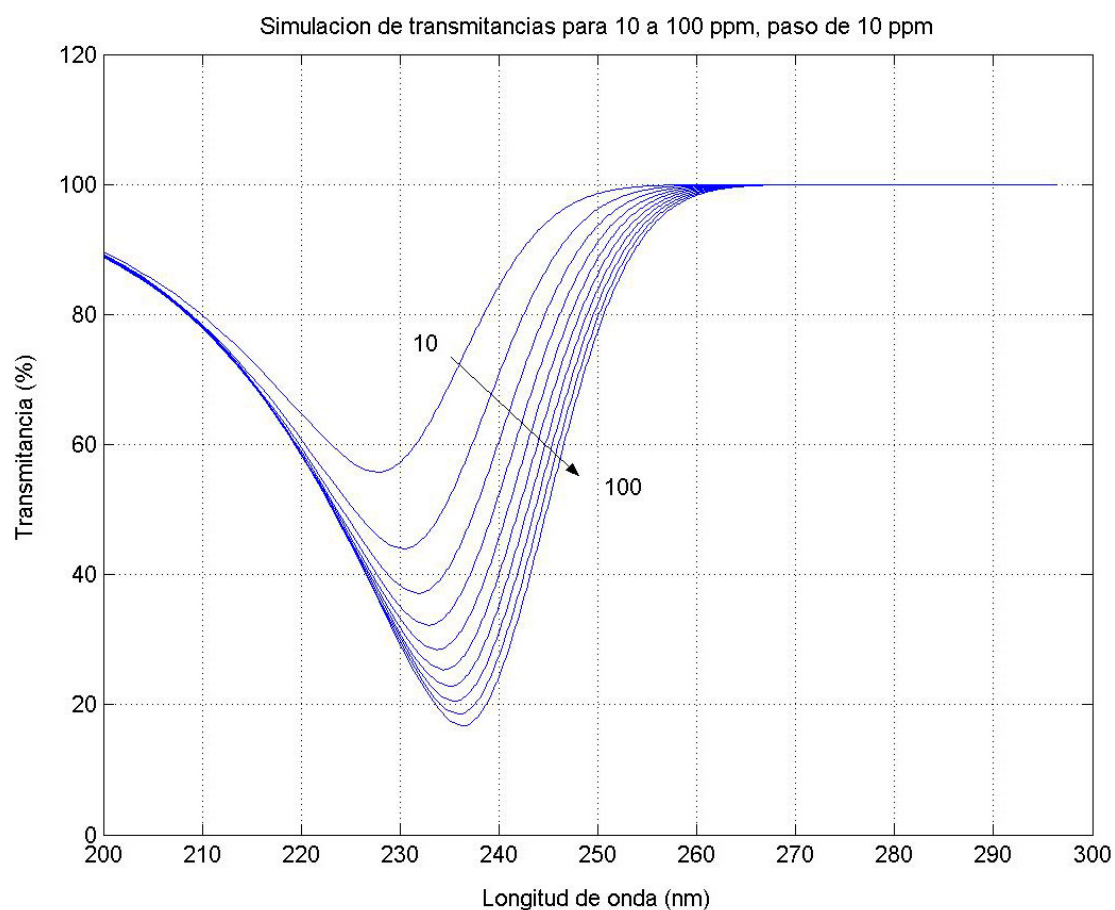


FIGURA 4-15. SIMULACIÓN DE RESPUESTAS DE CONCENTRACIONES DE NITRITO

Las posiciones de los máximos de absorción y su profundidad se han modelado de acuerdo con las medidas realizadas y ajustadas según la Ec. 4-7 y la Ec. 4-8. Para los cuatro valores de concentración de nitrito mostrados en la Figura 4-9 las funciones anteriores ajustan las respuestas cuando  $\sigma_1 = \sigma_2 = 12$ . Por esta razón se han representado todas las transmitancias simuladas con dicho valor de  $\sigma$ .

De manera similar, y siguiendo la Ec. 4-5 y la Ec. 4-6 puede obtenerse el conjunto de respuestas para las concentraciones de nitrato que muestra la Figura 4-16.

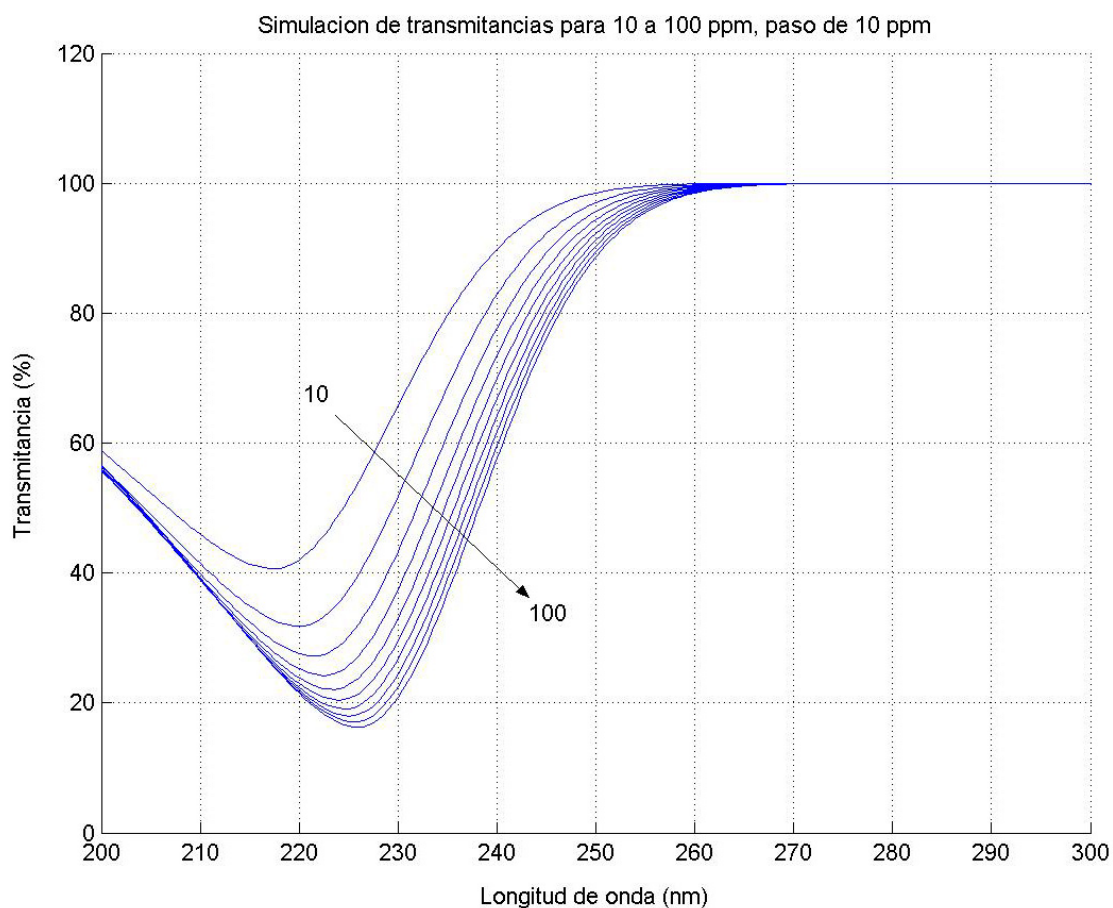


FIGURA 4-16. SIMULACIÓN DE RESPUESTAS DE CONCENTRACIONES DE NITRATO

En este último caso, del estudio de las respuestas de la Figura 4-1 se obtienen valores medios de  $\sigma_1=20$  y  $\sigma_2=17$ .

Esta simulación es consistente con el método de medida a dos longitudes de onda descrito en el capítulo 2.3, donde se indicaba que a 270 nm la influencia del nitrato es prácticamente nula.

Para comparar ambos comportamientos se incluye también la Figura 4-17, donde se representan las respuestas correspondientes a 100 ppm de nitrato y nitrito.

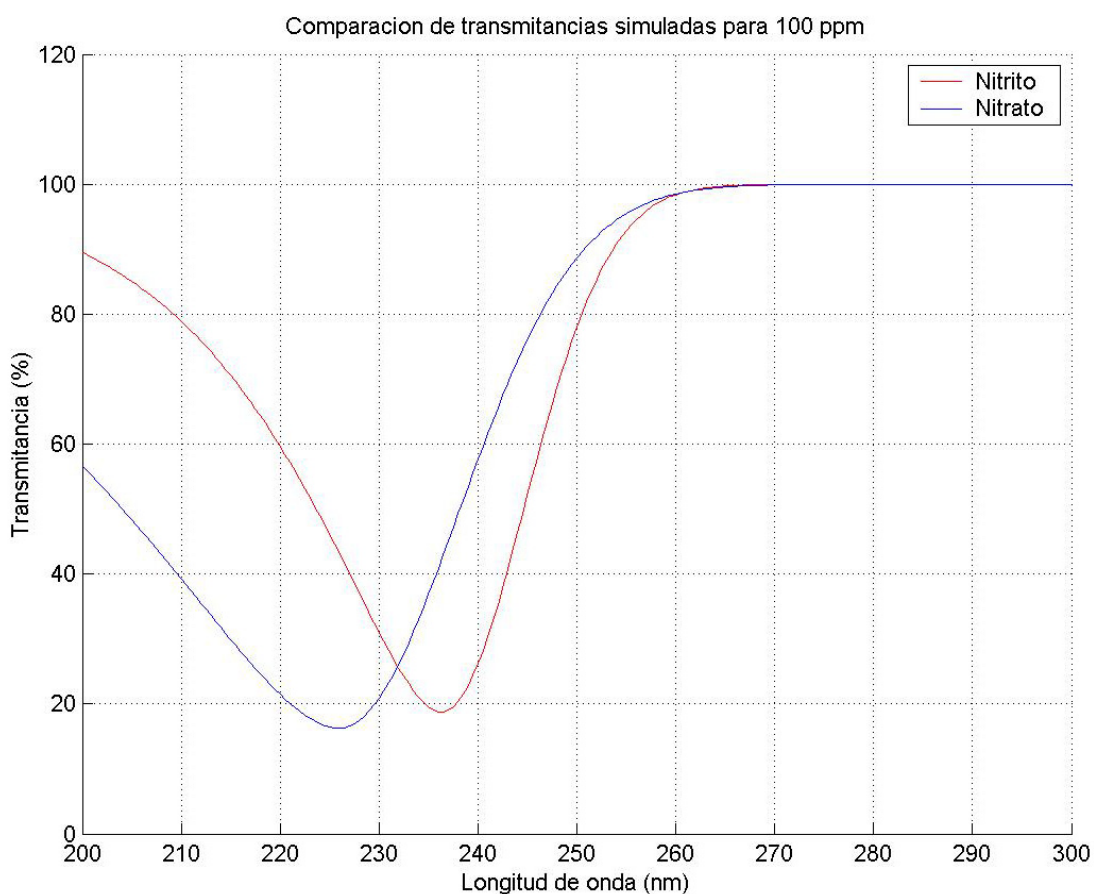


FIGURA 4-17. COMPARACIÓN DE RESPUESTAS DE NITRATO Y NITRITO.

Hasta ahora se ha estudiado con detalle la transmisión de señal cuando en el agua existe un único compuesto. Sin embargo, las aguas naturales pueden poseer otros compuestos que interfieren en la respuesta tal y como se vio en el capítulo 2.3. Para eliminar los efectos de esta interferencia, a diferencia de los métodos ya conocidos de regresión lineal, no se van a seleccionar varias longitudes de onda para realizar el análisis, sino toda la respuesta completa con la precisión de 0,5 nm ofrecida por el espectrofotómetro. Para realizar este análisis se va a utilizar la programación evolutiva descrita en el capítulo 3.2.2. utilizando un algoritmo de programación evolutiva clásica. El próximo capítulo describe la obtención del valor de la concentración de dos formas diferentes. La primera de ellas está basada en los patrones obtenidos en el capítulo 4.1 y la segunda en el modelo matemático hallado en este capítulo 4.2.

### **4.3 Estimación de la concentración mediante programación evolutiva.**

---

En este capítulo se describe la aplicación de la programación evolutiva a la obtención de las concentraciones de contaminantes. En primer lugar, a partir del análisis de una muestra procedente de Redueña y de las respuestas estudiadas en el capítulo 4.2, se ha realizado un modelado de la transmitancia. Este análisis revela que la transmitancia es el resultado del efecto conjunto de varias respuestas individuales. Posteriormente se explica como aplicar la programación evolutiva al ajuste de las respuestas real y simulada.

La presencia en una muestra de agua de varios contaminantes que interfieren en el mismo rango de longitudes de onda, hace inviable la obtención del valor de la concentración de los mismos a partir de una única medida realizada a una determinada longitud de onda.

La existencia de las interferencias debidas a otros contaminantes, igualmente impide seleccionar directamente y con suficiente precisión el patrón más adecuado a la muestra a estimar debido a las diferencias del rango de variación de la transmitancia.

El desplazamiento de la longitud de onda para la cual se produce el máximo de absorción con la concentración de nitratos permite diferenciar las concentraciones, aunque tampoco es suficiente para estimar la concentración con precisión en presencia

de otros contaminantes, especialmente si sus márgenes de longitudes de onda de influencia son muy próximos.

En la Figura 4-18 se observa una muestra de agua residual depurada tomada de un piezómetro situado en el filtro verde de Redueña. En la misma pueden apreciarse los efectos de interferencia entre varios contaminantes, destacando especialmente la presencia de nitratos. En la zona de interés para los mismos se produce un máximo de absorción a una longitud de onda de 222 nm. El valor de la transmitancia en este punto es del 22,73%.

Si se aplica la Ec. 4-6 para relacionar el valor de la transmitancia en el máximo de absorción con la concentración de nitrato resultaría un valor de concentración de 45,87 ppm.

Si se emplea la Ec. 4-5 para obtener la concentración a partir de la longitud de onda de máxima absorción se deduce un valor de concentración de 38,38 ppm.

Los valores típicos de concentración correspondientes a una muestra de agua natural en el Filtro Verde de Redueña como la mencionada anteriormente se encuentran entre 10 y 20 ppm, por lo que parece que las ecuaciones anteriores sobre-estiman la concentración de nitratos existente en la muestra.

La representación de la transmitancia mostrada en la Figura 4-18, es esencialmente diferente a las respuestas de nitratos y nitritos estudiadas en los capítulos 4 y 4.2. En primer lugar, los márgenes de variación no se encuentran entre el 0 y el 100% como

sucedía anteriormente, sino que el valor máximo de la muestra procedente de Redueña es de aproximadamente el 68 %. Además, la Figura 4-18 parece revelar, además del correspondiente a los nitratos, otros dos máximos de absorción en las longitudes de onda de 550 y 650 nm.

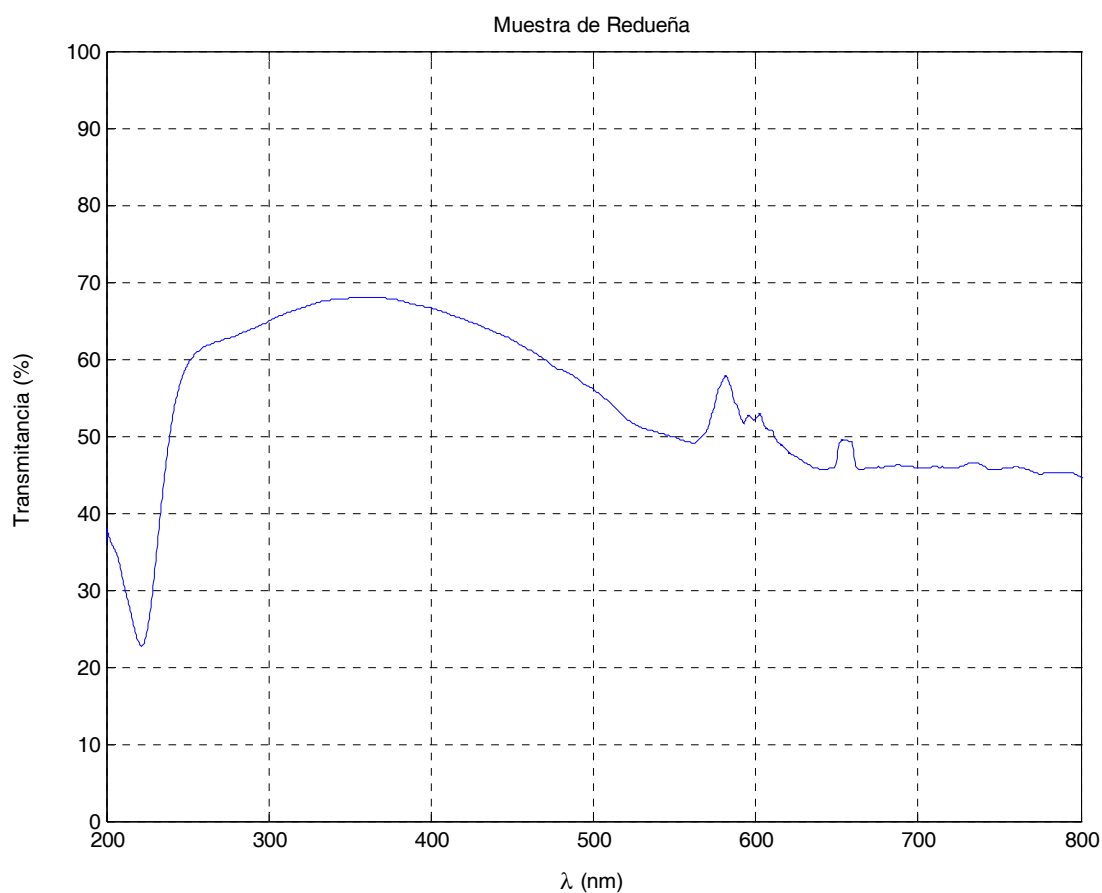


FIGURA 4-18 ESPECTRO DE AGUA PROCEDENTE DE REDUEÑA

En el capítulo 2.2 se hizo referencia a la absorción debida a la materia orgánica, la cual podía modelarse a partir de la Ec. 2-21. Esta ecuación es válida entre 350 y 700 nm. Para extenderla hasta 200 nm, consideraremos constante su valor por debajo de 300 nm.



Igualmente, y según las referencias indicadas en dicho capítulo, se ajustará la ecuación de acuerdo al valor de la transmitancia medida de la muestra a 440 nm.

Considerando estas cuatro respuestas mencionadas se ha realizado la transmitancia simulada que se indica en la Figura 4-19. En color negro se muestran las transmitancias individuales de un patrón de 15 ppm, un patrón simulado con  $\lambda_{\min}=550$  nm y  $T_{\max}=80\%$  donde se han tomado  $\sigma_1=60$  y  $\sigma_2=30$ , otro patrón simulado con  $\lambda_{\min}=650$  nm y  $T_{\max}=64\%$  donde se han tomado  $\sigma_1=65$  y  $\sigma_2=60$  y la respuesta de la materia orgánica mencionada.

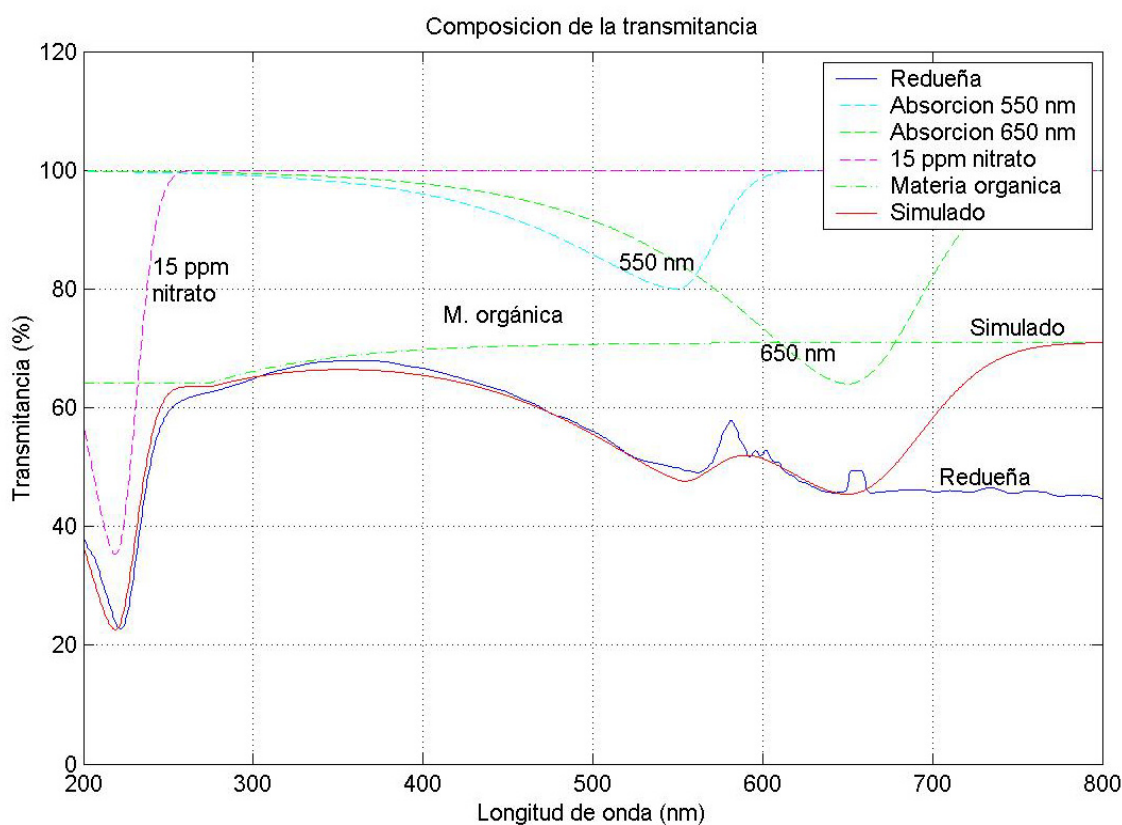


FIGURA 4-19. MODELADO DE UNA MUESTRA DE AGUA PROCEDENTE DE REDUEÑA.

Puede comprobarse como efectivamente, a la longitud de 440 nm, la contribución fundamental a la reducción de la transmitancia es debida a la materia orgánica. De igual modo, el valor correspondiente a la concentración de nitrato es mucho más ajustado a los valores típicos esperados que el obtenido anteriormente. La transmitancia del conjunto se ha obtenido como el producto de las transmitancias individuales.

Los ajustes de las respuestas indicadas Figura 4-19 se han efectuado de manera rudimentaria y aún así se observa una correspondencia elevada entre la respuesta real y la simulada. La programación evolutiva permite realizar los ajustes de estas combinaciones de transmitancias de manera automatizada y mucho más precisa.

Como se ha demostrado en capítulos anteriores, cada contaminante posee una transmitancia propia en función de la variación de su concentración. Podemos considerar cada una de estas respuestas como un patrón de conducta de cada uno de ellos y emplear la programación evolutiva para hallar la conducta más similar a la de la muestra a analizar.

La adecuación de la conducta, tal y como se expuso en el capítulo 3.2, se realiza mediante el cómputo de la función de la función objetivo o de ajuste, o función de *fitness*. En este caso, puesto que se trata de evaluar el parecido de los patrones a la muestra, emplearemos como medida del parecido o adecuación el error cuadrático. Consideraremos que un patrón es más adecuado que otro a la muestra a medir cuando su error cuadrático con respecto a dicha muestra sea más pequeño.

### **4.3.1 Estimación de la concentración de nitrato.**

Las primeras investigaciones [113;114] se han realizado empleando programación evolutiva clásica tal y como describe el capítulo 3.2.2.

Para ello se ha partido de un juego de medidas obtenidas a partir de disoluciones de concentraciones conocidas de nitrato en agua destilada. Puesto que estas medidas representan el patrón de conducta de la concentración nos referiremos a ellas genéricamente como patrones.

Se ha dispuesto de un conjunto de patrones desde 1 ppm hasta 50 ppm, en intervalos de 2 ppm, y desde 55 ppm hasta 100 ppm, en intervalos de 5 ppm de concentración. La respuesta de estos patrones se muestra en las dos figuras siguientes. Como puede observarse en las figuras, la calidad de las medidas realizadas para la obtención de los patrones no es excesivamente buena, especialmente para las concentraciones más bajas.

Esto, sin duda, limita los resultados a obtener mediante la programación evolutiva y ha supuesto el motivo fundamental por el cual se ha realizado el modelado de la transmitancia descrito en el capítulo 4.2.

El objetivo será decidir, empleando la programación evolutiva, cual de los patrones de conducta es más adecuado a la muestra.

Puesto que en la medida existen interferencias que reducen el valor de la transmitancia en la zona de influencia de los nitratos, será necesario adecuar cada patrón antes realizar

el cálculo de su capacidad o *fitness*. La presencia de las interferencias se va a valorar considerando dos posibles errores sobre la transmitancia: desplazamiento y proporcionalidad.

Aunque en el modelado mostrado en la Figura 4-19 solo se ha utilizado el error de proporcionalidad (se ha realizado como un producto de muestras), la introducción del error de desplazamiento añade mayor generalidad al método.

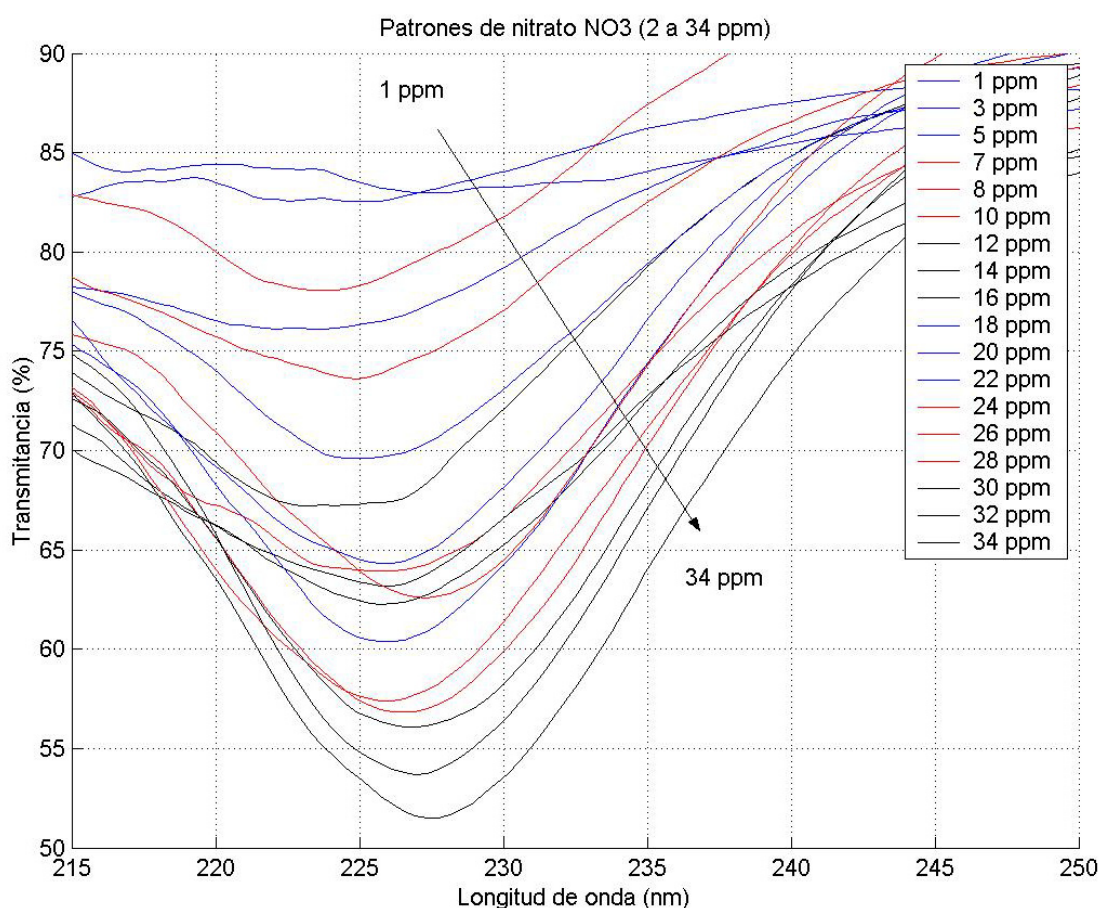


FIGURA 4-20. DETALLE DE PATRONES DISPONIBLES (DESDE 1 A 34 PPM)

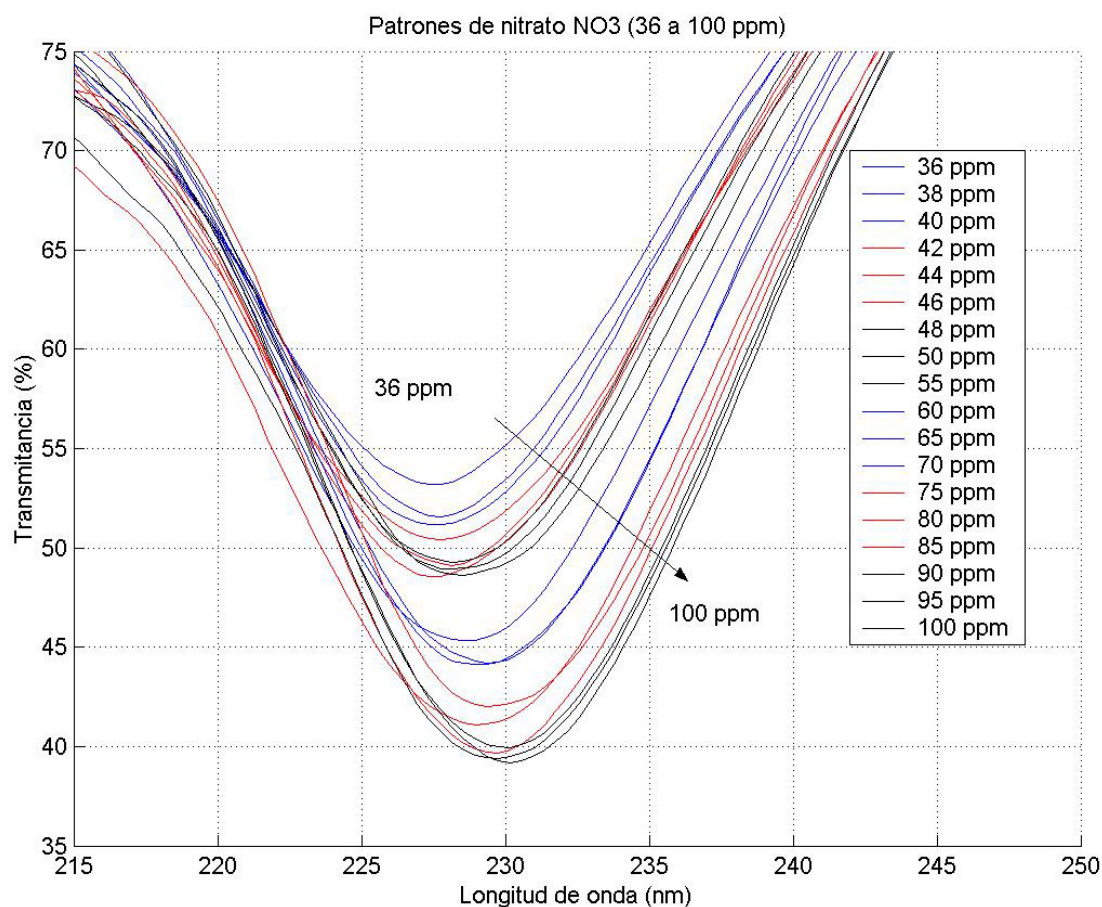


FIGURA 4-21. DETALLE DE PATRONES DISPONIBLES (DESDE 36 A 100 PPM)

Si llamamos respectivamente  $m(\lambda)$  y  $p_i(\lambda)$  a las respuestas espectrales de la transmitancia de la muestra a estimar y de cada uno de los patrones, el objetivo de la programación evolutiva será encontrar dos coeficientes para cada patrón (desplazamiento y proporcionalidad) que maximizan su adecuación a la muestra. Para ello hemos tomado  $a$  y  $b$  como dos valores reales comprendidos en el rango  $[0, 1]$ . (Los ficheros de datos con los que se ha trabajado están en unidades naturales, no en tanto por ciento. En caso de haberse utilizado en tanto por ciento, la variable  $a$  debería estar contenida en el intervalo  $[0, 100]$ ). Hemos adecuado cada uno de los patrones como

muestra la Ec. 4-12. Los valores óptimos de  $a_i$  y  $b_i$  se han obtenido mediante el algoritmo evolutivo descrito en el capítulo 3.2.

$$x_i(\lambda) = a_i + b_i p_i(\lambda) \quad \text{EC. 4-12}$$

La población inicial se ha formado por  $\mu = 50$  pares ( $a_i, b_i$ ) generados aleatoriamente. A partir de ellos se han generado 50 hijos siguiendo una distribución gaussiana cuya media es igual a la del padre y cuya varianza esta dada por la Ec. 3-3, tomando  $\tau' = \left(\sqrt{2\sqrt{2}}\right)^{-1}$  y  $\tau = \left(\sqrt{4}\right)^{-1}$ .

La capacidad de los individuos se ha evaluado considerando más adecuados a aquellos que consiguen minimizar el error cuadrático de la diferencia entre el patrón adaptado y la muestra a estimar siguiendo la siguiente ecuación:

$$f(a_i, b_i) = \sum_{\lambda=200}^{300} \left( m(\lambda) - (a_i + b_i p_i(\lambda)) \right)^2 \quad \text{EC. 4-13}$$

El proceso se ha repetido hasta completar 100 generaciones. Como puede observarse en la Ec. 4-13, el intervalo de longitudes de onda considerado ha sido desde 200 hasta 300 nm. Este intervalo coincide con el que se ha tomado constante para la influencia de la materia orgánica en el modelado de la transmitancia representado en la Figura 4-19. Puesto que se ha tratado de evaluar únicamente la concentración de nitrato, es suficiente este margen de longitudes de onda. Su reducción permite además reducir el gasto computacional del algoritmo.

Por último, una vez hallado cada par de valores ( $a_i$ ,  $b_i$ ) que minimizan el error de cada patrón, se decide que la concentración de la muestra es aquella que corresponde al patrón cuya adaptación presenta menor error cuadrático. Con el fin de comprobar el funcionamiento del método descrito, se ha realizado la prueba sobre una muestra de agua depurada procedente del filtro verde de Redueña (Madrid), de la que se conoce que su concentración de nitratos es de 11 ppm. Una vez ejecutado el programa que computa el algoritmo descrito, se obtienen las siguientes dos figuras que representan la evolución de las variables  $a$  y  $b$  a lo largo de las 100 generaciones.

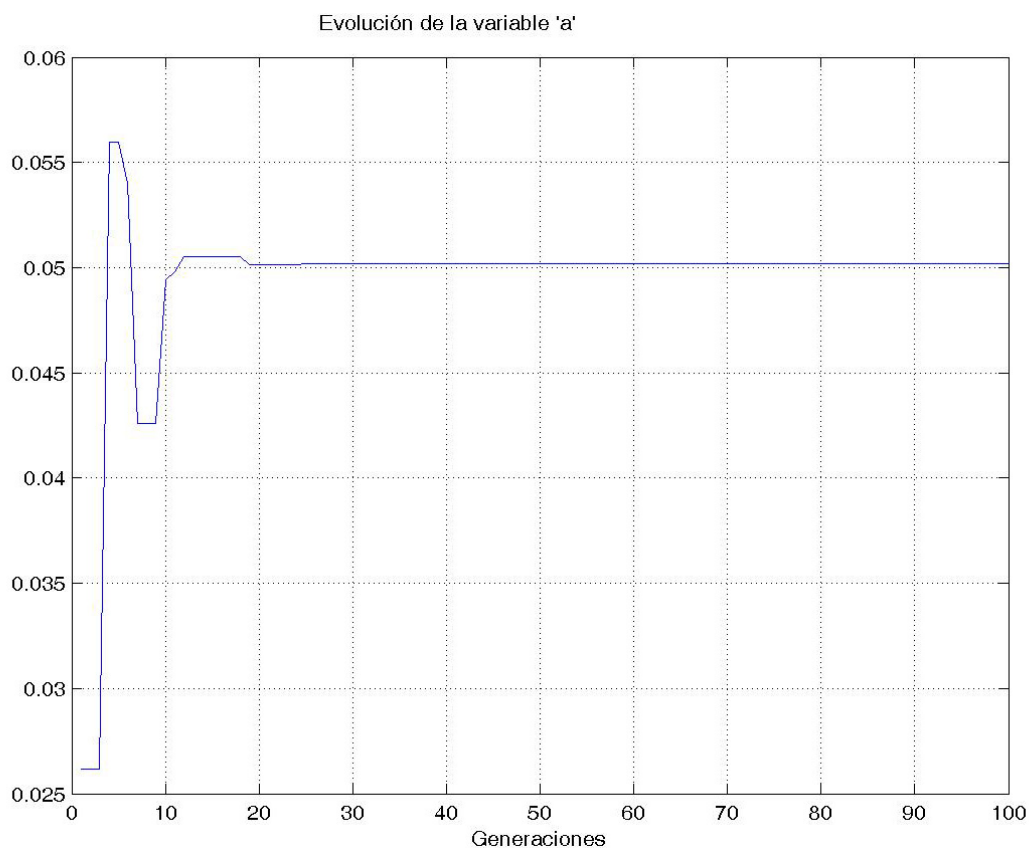


FIGURA 4-22. EVOLUCIÓN DE LA VARIABLE “a”

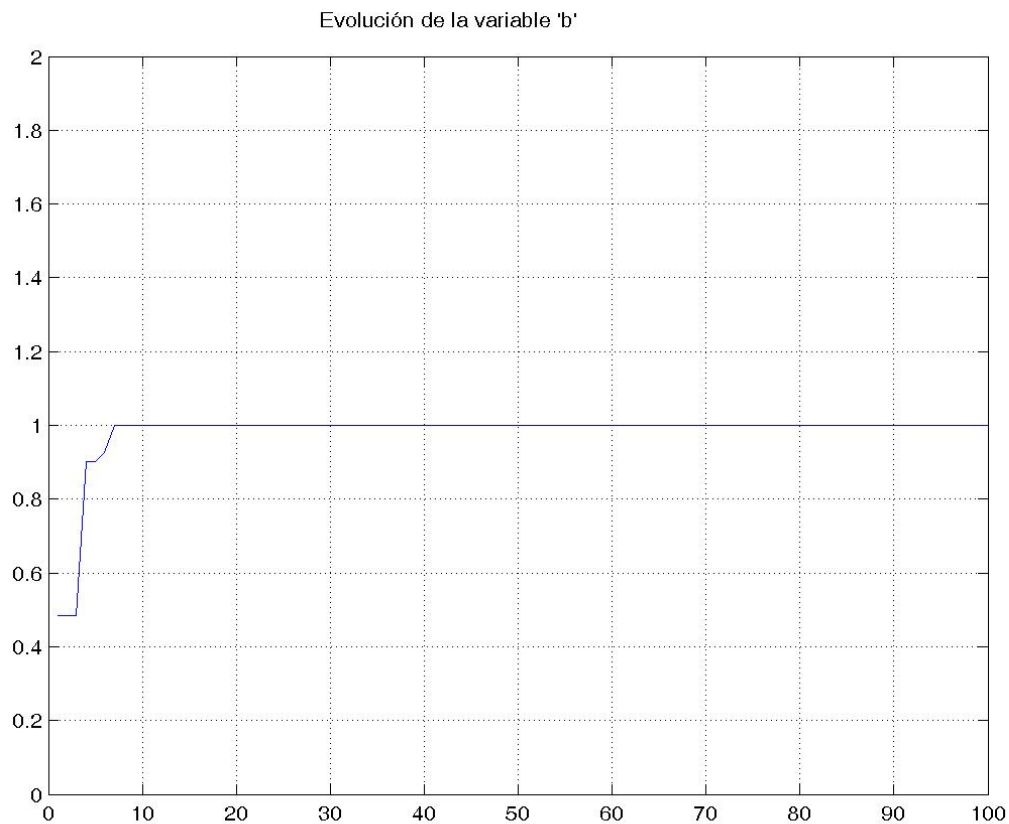


FIGURA 4-23. EVOLUCIÓN DE LA VARIABLE “b”.

La evolución de las variables es relativamente rápida, alcanzándose los valores finales alrededor de la décima generación. Los valores de las variables obtenidos finalmente son:  $a=0.0501941$  y  $b=1$ .

Empleando estos valores para corregir el patrón seleccionado (14 ppm), se obtiene la Figura 4-24. Esta figura muestra la transmitancia de la muestra a estimar (línea discontinua), y el patrón adaptado mediante el algoritmo evolutivo (línea continua). Se puede comprobar que ambas curvas son realmente muy similares, y la diferencia en la



estimación realizada con el valor real de la muestra probablemente es debida a la variabilidad que presentan los patrones disponibles.

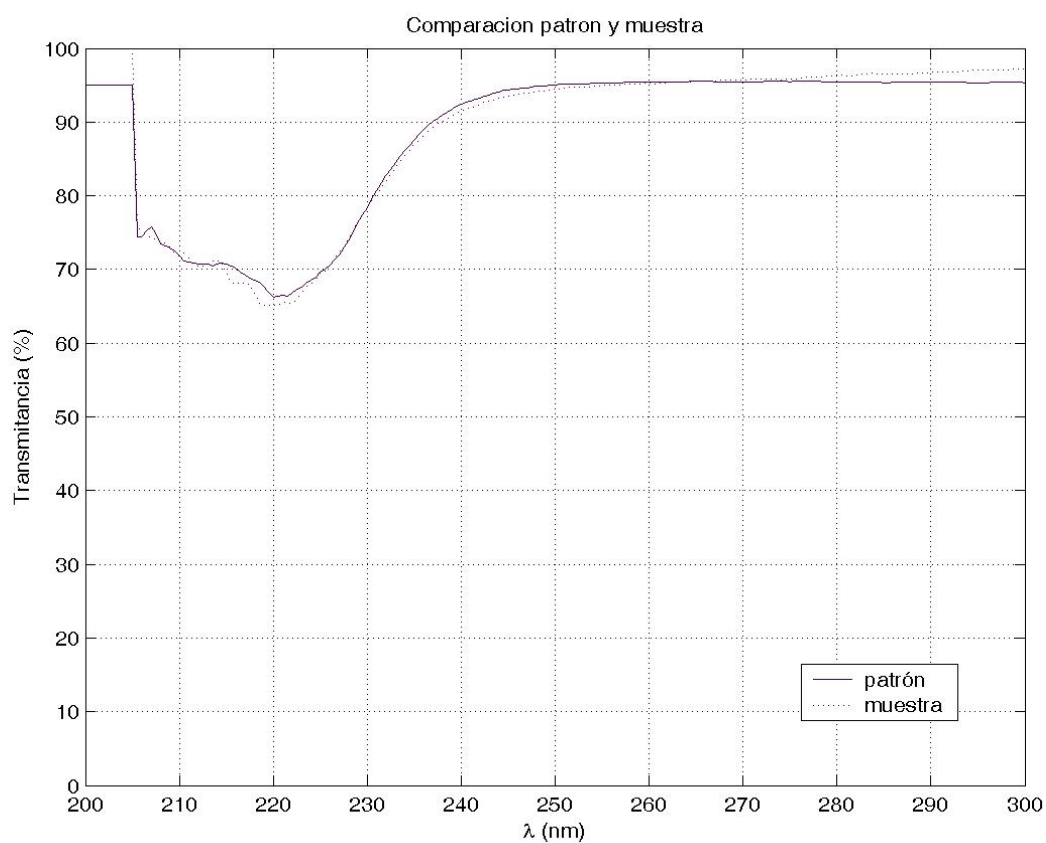


FIGURA 4-24. COMPARACIÓN DEL PATRÓN DE 14 PPM ADAPTADO Y LA MUESTRA DE AGUA  
DEPURADA

### 4.3.2 Estimación de múltiples contaminantes.

En el capítulo 4.2 se ha obtenido la forma de generar los patrones de nitrato y nitrito para un valor de concentración dada. También se ha demostrado como la transmitancia

de una muestra puede obtenerse a partir del producto de las transmitancias correspondientes a cada uno de los compuestos que la forman. La influencia de la turbidez, que reduce por efecto de la dispersión espectral la transmitancia del conjunto, y la de la concentración de materia orgánica, que no presenta ningún máximo de absorción en la zona de interés pero que igualmente reduce la transmitancia, serán modeladas mediante un polinomio de segundo orden (absorción de fondo), en lugar de la función exponencial empleada en el capítulo 4.3.1, con objeto de ampliar el margen de validez de las mismas.

Con estas premisas, el modelo propuesto para la transmitancia será el siguiente:

$$x_j(\lambda) = (a_j + b_j\lambda + c_j\lambda^2) \prod_{i=1}^{N_C} p_{ji}(N_{ji}, \sigma_{ji1}, \sigma_{ji2}) \quad \text{EC. 4-14}$$

En la expresión anterior,  $N_C$  es el número de contaminantes que desean estimarse y  $p_{ji}$  es el patrón del contaminante  $i$ -ésimo asociado al modelo de transmitancia  $j$ -ésimo. El patrón será generado de acuerdo con la Ec. 4-11 a partir de los valores de concentración  $N_{ji}$ , y de los parámetros  $\sigma_{ji1}$  y  $\sigma_{ji2}$  correspondientes a las funciones de Fermi y gaussiana. Estos dos últimos parámetros pueden considerarse fijos para cada contaminante al igual que se supuso para realizar las respuestas halladas en el capítulo 4.2.

Por tanto, el individuo  $j$ -ésimo de la población será un vector compuesto por los siguientes valores reales:

$$(a_j, b_j, c_j, N_{j1}, N_{j2}, \dots, N_{jN_C}) \quad \text{EC. 4-15}$$

Además es necesario imponer una serie de restricciones a los valores que pueden tomar los elementos del vector anterior. En primer lugar, los coeficientes del polinomio deben ser tales que dicho polinomio presente un valor real perteneciente al intervalo  $[0, 1]$  en el margen de longitudes de onda en el que se va a estimar la concentración. Los valores de las concentraciones de cada contaminante igualmente deben ser valores reales y positivos limitados al intervalo  $[0, N_{i-\max}]$  donde  $N_{i-\max}$  es el valor máximo de validez de las ecuaciones disponibles para el modelado de la transmitancia.

Este método presenta una ventaja en cuanto a la precisión con respecto al propuesto en el capítulo 4.3.1 implementado a partir de patrones. En el método propuesto anteriormente, el valor de concentración a obtener está limitado a uno de entre los correspondientes a los patrones disponibles. En las pruebas realizadas esto correspondía a intervalos de 2 ppm para valores inferiores a 50 ppm y a intervalos de 5 ppm para valores hasta 100 ppm. En este caso, el valor de la concentración de nitrato puede ser cualquiera en el intervalo (0,5 350). La precisión está únicamente limitada a la bondad del ajuste de la longitud de onda de máxima absorción y de la transmitancia a dicha longitud de onda.

Este método está abierto a la combinación de patrones generados matemáticamente y a otros obtenidos a partir de medidas. En este caso, la Ec. 4-14 debe describirse de la siguiente forma:

$$x_j(\lambda) = (a_j + b_j\lambda + c_j\lambda^2) \prod_{i=1}^{N_E} p_{ji}(N_{ji}, \sigma_{ji1}, \sigma_{ji2}) \prod_{k=1}^{N_M} p_{jk}(\lambda) \quad \text{EC. 4-16}$$

$N_E$  y  $N_M$  indican el número de patrones generados a partir de ecuaciones y a partir de medidas respectivamente y  $p_{jk}(\lambda)$  es cada uno de los patrones medidos.

La función que evalúa la capacidad de cada individuo será nuevamente el error cuadrático de la diferencia entre la muestra a estimar,  $m(\lambda)$ , y la muestra generada según la Ec. 4-14:

$$f_j(a_j, b_j, c_j, N_{j1}, N_{j2}, \dots, N_{jN_C}) = \sum_{\lambda=\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} (m(\lambda) - x_j(\lambda))^2 \quad \text{EC. 4-17}$$

Para generar descendientes a partir de los padres de la generación anterior pueden utilizarse los operadores de mutación, implementado igual que en el caso anterior, y de cruce. El operador de cruce se realiza intercambiando entre dos padres los valores de la tripleta ( $a_j$ ,  $b_j$ ,  $c_j$ ) o de las concentraciones  $N_j$  para formar un nuevo individuo.

En este capítulo se ha obtenido una forma de obtener la concentración de nitrato (o de manera genérica de múltiples contaminantes) a partir de un algoritmo de programación evolutiva. El método propuesto posee una gran flexibilidad a la hora de modelar la absorbancia de fondo, pues no presupone más que una relación cuadrática con la longitud de onda, dejando a la evolución del algoritmo la obtención de los constantes del polinomio que mejor se adapten a la muestra a analizar. Igualmente permite el análisis a partir de una combinación de respuestas medidas o patrones y de respuestas modeladas matemáticamente. El último problema planteado está relacionado con la posibilidad de realizar la medida *in situ*. Para ello es necesario solucionar el problema de la eficiencia de iluminación del entorno de medida descrito en el apartado 2.4. En el

capítulo siguiente se describen los pasos seguidos para el diseño de un prototipo sumergible para la medida directa de estos contaminantes.

---

#### 4.4 Medida *in situ* de la concentración.

---

El análisis espectral de la transmitancia de distintas concentraciones de nitrato referido en el capítulo 4.1 se ha realizado utilizando el equipamiento descrito en el apartado 3.1. De esta forma, es necesario situar la muestra en la cubeta de cuarzo para proceder a su análisis. Este proceso de medida es necesariamente discontinuo y remoto puesto que es necesario transportar la muestra hasta el laboratorio donde se encuentra el equipamiento. Para conseguir la medida *in situ* de la concentración se buscó inicialmente un sistema de posicionamiento de las fibras que permita ajustar su alineamiento de acuerdo con los cálculos realizados en el capítulo 2.4. A pesar de las limitaciones en la eficiencia previstas, el sistema ideado es simple para valorar si la potencia de luz recibida es suficiente o si por el contrario es necesario encontrar otro montaje que optimice la eficiencia de iluminación.

En primer lugar se ha probado a sumergir los dos latiguillos de fibra óptica colocados en una varilla hueca de acero inoxidable (AISI-304) a la que se han colocado dos adaptadores para los conectores SMA de los latiguillos de manera que queden separados aproximadamente 10 mm, una distancia equivalente a la de la cubeta. Todo este montaje se puede observar en la Figura 4-25.

Al medir la señal obtenida cuando se sumerge el montaje descrito en agua destilada se obtiene el espectro mostrado en la Figura 4-26. El nivel, medido en cuentas, es

significativamente inferior al mostrado en la Figura 3-5, lo que da una primera idea de la reducción de señal producida.



FIGURA 4-25 VARILLA DE ACERO INOXIDABLE PARA POSICIONAR LAS FIBRAS.

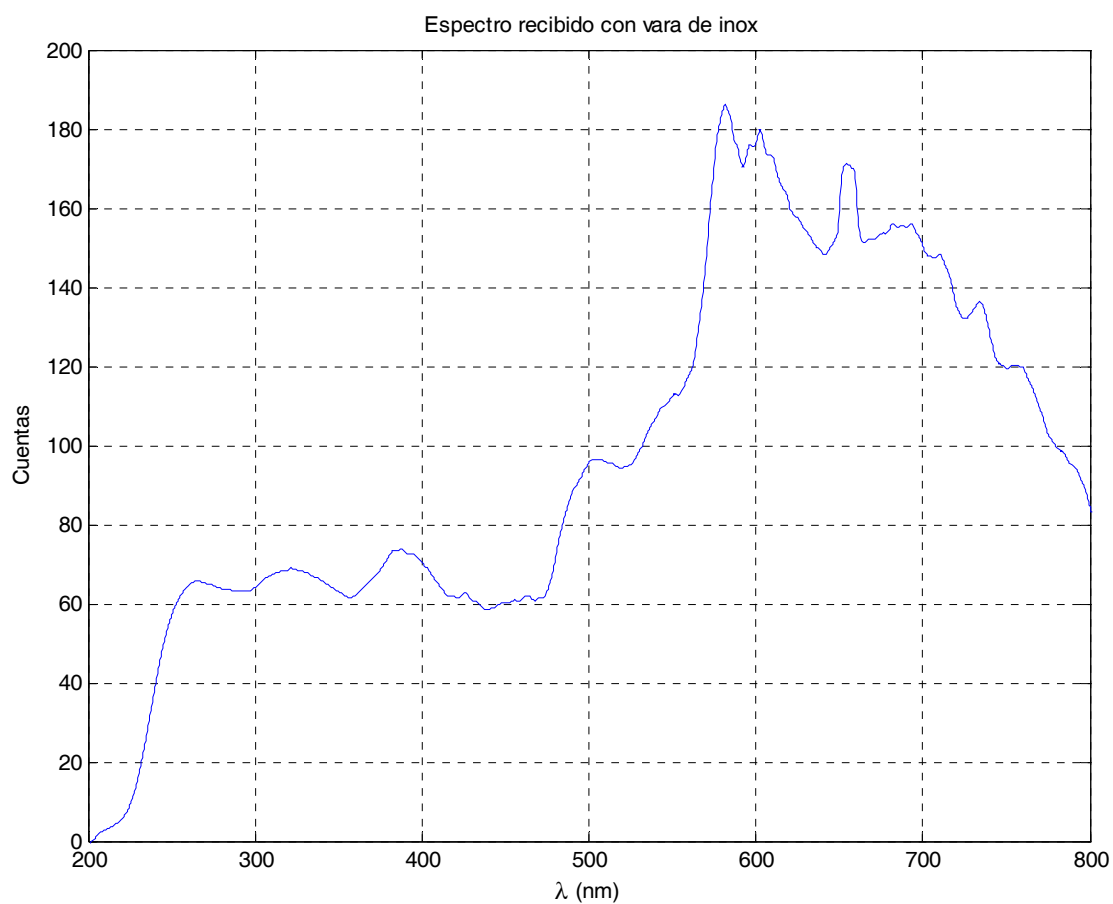


FIGURA 4-26 ESPECTRO RECIBIDO A TRAVÉS DE LA VARILLA DE ACERO INOXIDABLE.

Si se compara la transmitancia del montaje con la obtenida anteriormente empleando el soporte de cubetas, los resultados son los que se muestran en la figura siguiente.

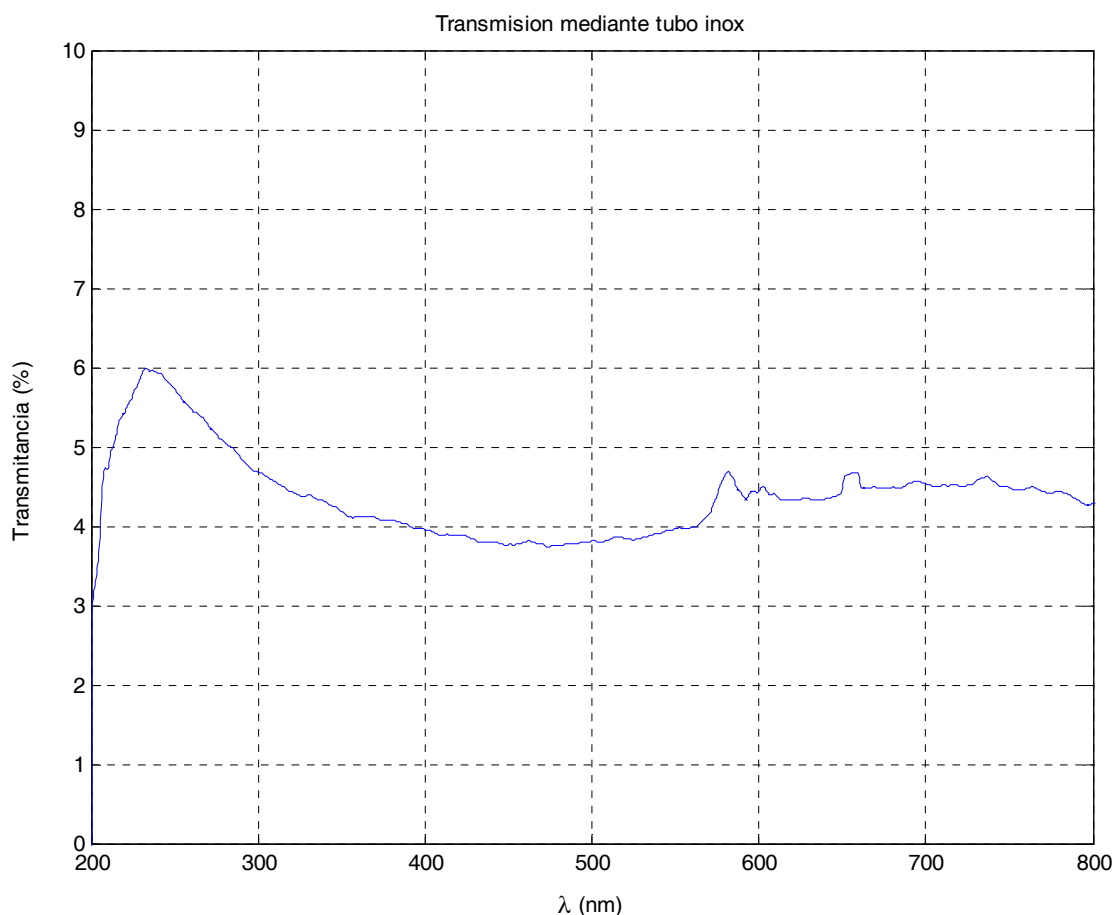


FIGURA 4-27 TRANSMITANCIA EMPLEANDO LA VARILLA DE ACERO INOXIDABLE

Como se puede observar los niveles de transmitancia son muy pequeños, entre el 5 y el 6 % en el margen de longitudes de onda de interés, debido al desacoplamiento entre las fibras que se encuentran conectadas en ambos extremos. Este desacoplamiento ocasiona que la fibra conectada al receptor no sea capaz de captar la potencia que emite la fuente y que atraviesa la muestra a analizar.



Para intentar solventar este inconveniente se empleó un adaptador SMA, construido a partir de un conector coaxial de microondas vaciado y al que se practicó un orificio para permitir el acceso del agua (Figura 4-28), siendo el resultado de la transmitancia con respecto al soporte de cubetas el mostrado en la Figura 4-29.



FIGURA 4-28. ADAPTADOR Y CONECTORES SMA.

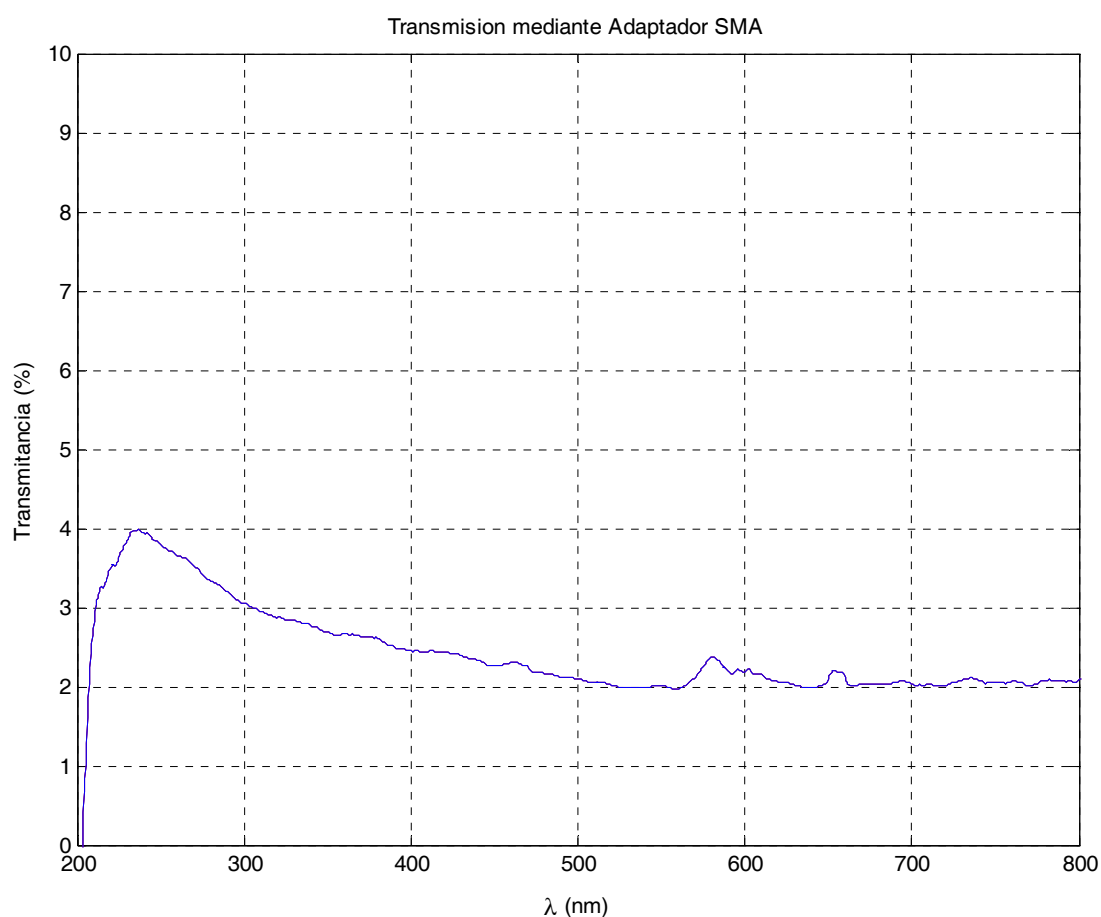


FIGURA 4-29 TRANSMITANCIA EMPLEANDO EL ADAPTADOR SMA

Nuevamente, los niveles de transmitancia son muy pequeños debido al desacoplamiento de las fibras. Este desacoplamiento se traduce en una baja eficiencia, por lo que se hace necesario encontrar una forma de mejorar la iluminación de la muestra. La solución radica en emplear elementos con un ancho de aceptación mucho mayor, o en su defecto, emplear dispositivos capaces de guiar el rayo de luz (espejos, lentes,...).

#### **4.4.1 Prototipo diseñado.**

Esta última ha sido la solución adoptada para mejorar la eficiencia del acoplamiento. Mediante una petición de auxilio puntual realizada al Centro de Investigaciones De la Armada (CIDA) se ha construido un prototipo cilíndrico que mejora la eficiencia del acoplamiento. Los planos de detalle que se incluyen a continuación también han sido realizados en el CIDA. El aspecto externo del conjunto realizado se muestra en la siguiente imagen.



FIGURA 4-30. FOTOGRAFÍA DEL PROTOTIPO DISEÑADO

El prototipo diseñado consta fundamentalmente de un soporte y una tapa de acero inoxidable que alojan dos lentes y un prisma y que permiten conectar dos latiguillos de fibra óptica terminados en conectores SMA.

La luz se inyecta y se extrae mediante los latiguillos. El diseño se sumerge completamente de manera que la muestra a medir penetra a través del orificio pasante que se observa en la Figura 4-30 e inunda el volumen que separa las lentes y el prisma. El sistema óptico se ha diseñado de manera que el camino óptico entre los latiguillos de fibra de 400  $\mu\text{m}$  y las lentes sea aire, para evitar daños en la fibra producidos por el agua, y que el camino óptico entre las lentes y el prisma sea la muestra a analizar.

Las lentes, de tipo plano-convexo, se han realizado en material de cuarzo fundido siguiendo el esquema que muestra la Figura 4-31. Los latiguillos están enfrentados a la lente por la cara convexa. Para lograr la estanqueidad en la zona entre los latiguillos y la lente se han incorporado una serie de juntas de neopreno.

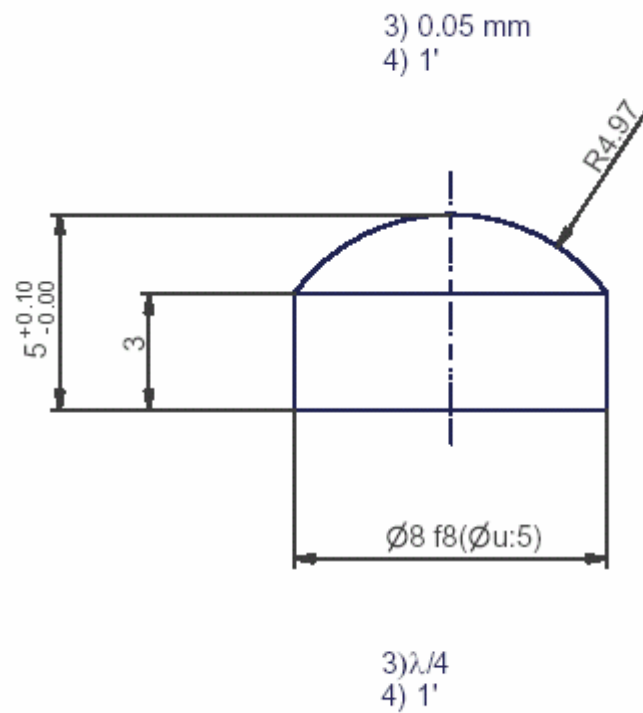


FIGURA 4-31. LENTE CONVERGENTE

La cara plana de las lentes está enfrentada a un prisma fabricado también en cuarzo fundido, que se encarga, mediante dos reflexiones, de guiar la luz desde una lente hasta la otra a través de la muestra a medir. La Figura 4-32 muestra el plano del prisma descrito.

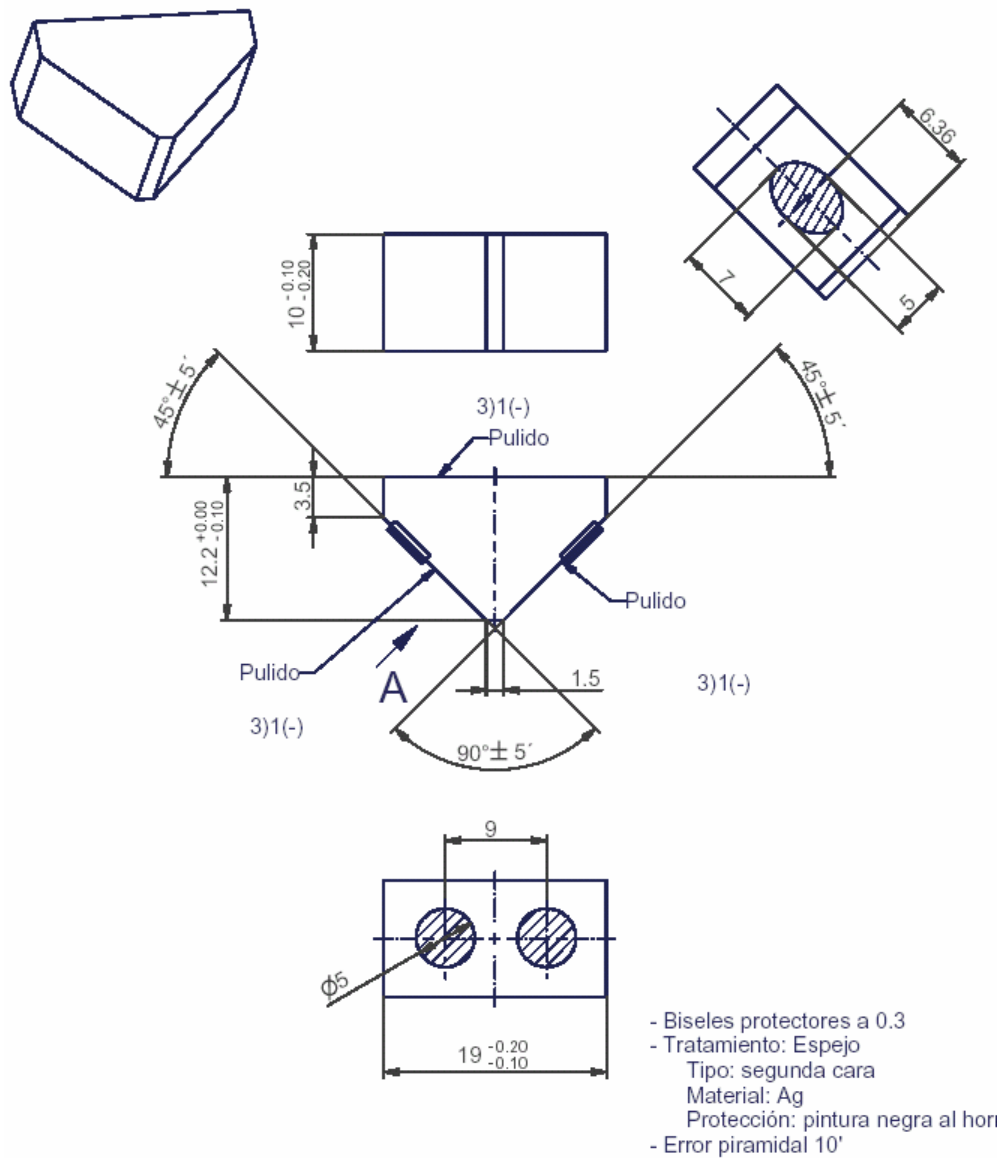


FIGURA 4-32. PRISMA

Una vez dispuestos todos los elementos ópticos, su colocación espacial es la que muestra el esquema de la Figura 4-33 y su aspecto una vez contruidos es el que muestra la Figura 4-34.

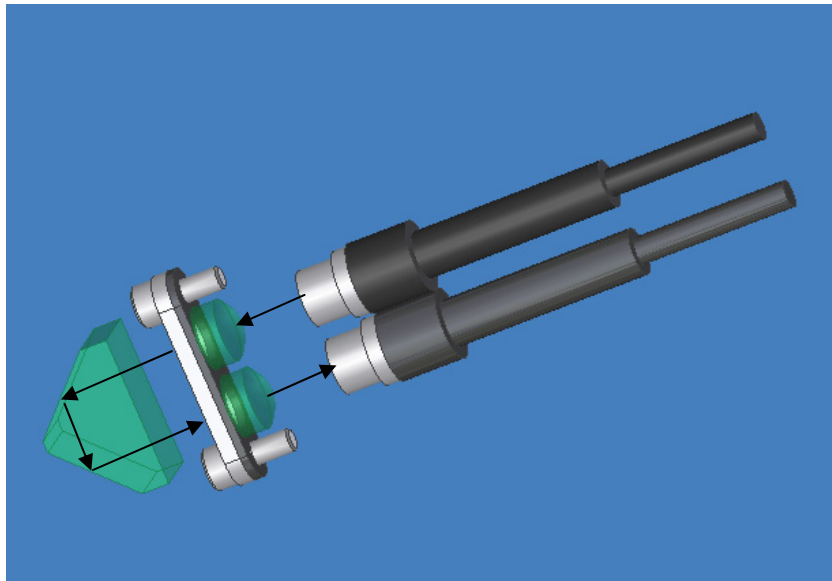


FIGURA 4-33. DISPOSICIÓN DE LOS ELEMENTOS ÓPTICOS



FIGURA 4-34. FOTOGRAFÍA DE LOS ELEMENTOS ÓPTICOS Y LA TAPA DE APRIETE.

La Figura 4-35 muestra la vista en planta y cortes los planos del soporte sobre el que están alojados los elementos descritos anteriormente. La vista lateral y sus cortes

pueden verse en la Figura 4-36. el soporte se ha fabricado empleando material de acero inoxidable (F-3504) resistente a la corrosión de acuerdo a la norma UNE 36016-75.

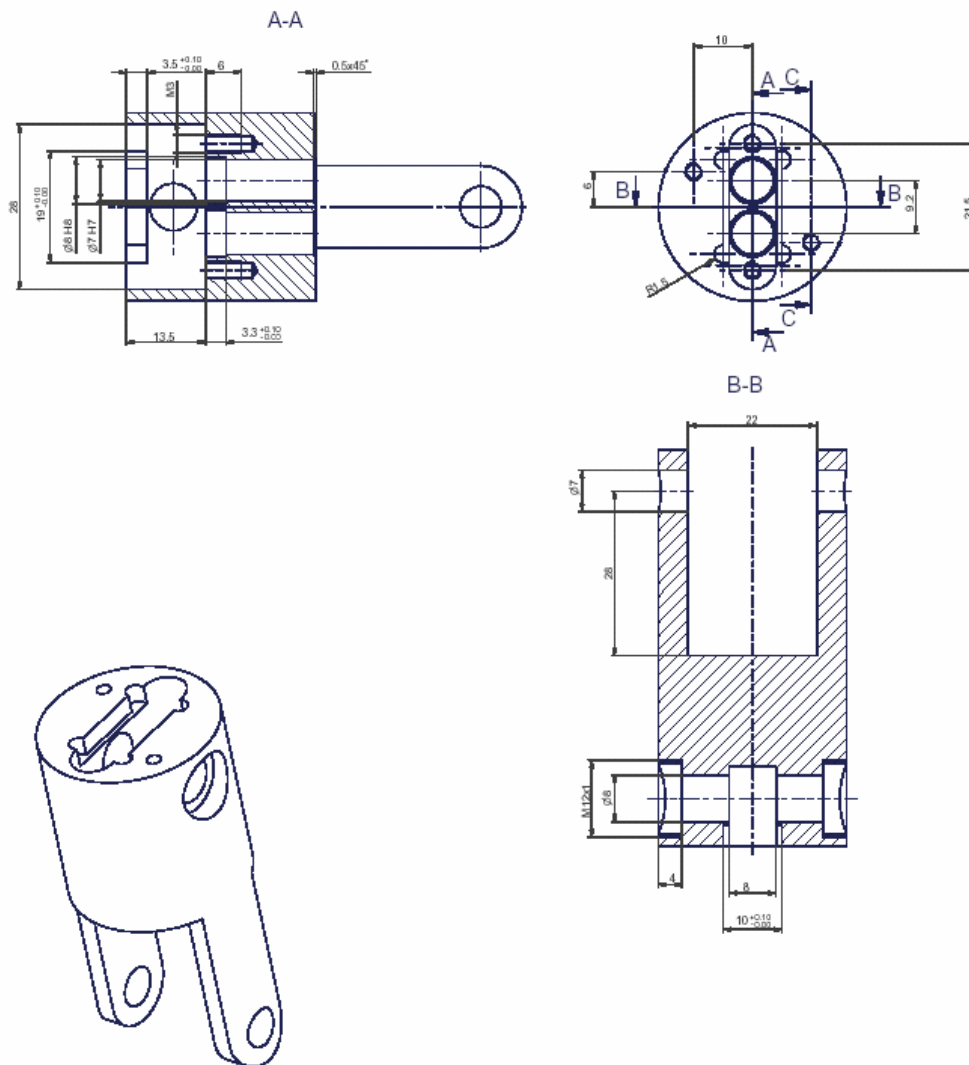


FIGURA 4-35. SOPORTE. VISTA DE PLANTA Y CORTES

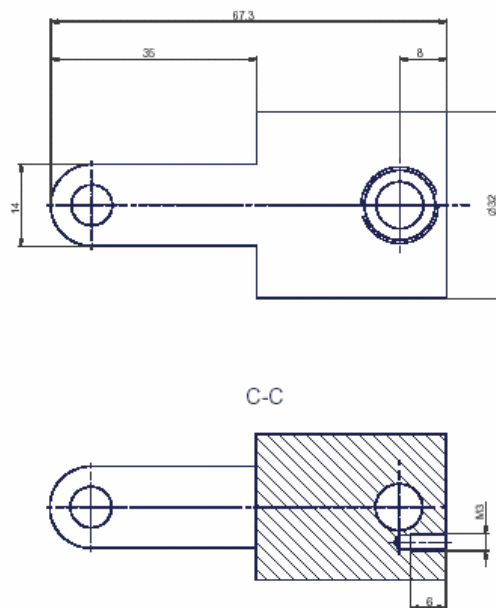


FIGURA 4-36. SOPORTE. VISTA LATERAL Y CORTE

El prototipo construido se ha conectado en lugar del soporte de cubetas y se ha medido la transmitancia con respecto al soporte de cubetas para comprobar su eficiencia. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4-37. Se ha representado en el margen de 200 a 400 nm para obtener un mayor detalle de la zona del UV. Como puede observarse, la mayor eficiencia relativa se obtiene en torno a 310 nm, obteniéndose eficiencias inferiores al 100 % (en torno al 50%) en la zona de interés para la medida de nitrato. La zona del espectro donde las fuentes emiten menor señal se encuentra entre 200 y 250 nm. Por tanto, sería conveniente desplazar el máximo de la eficiencia a una longitud de onda menor para compensar esta diferencia de potencia emitida. Para ello es necesario cambiar las lentes de cuarzo del prototipo. Para longitudes de onda mayores de 400 nm, la eficiencia del prototipo con respecto al soporte permanece



aproximadamente constante, en torno al 35 %. Esto no supone inconveniente puesto que la intensidad emitida por las fuentes en esta zona es muy superior a la del ultravioleta.

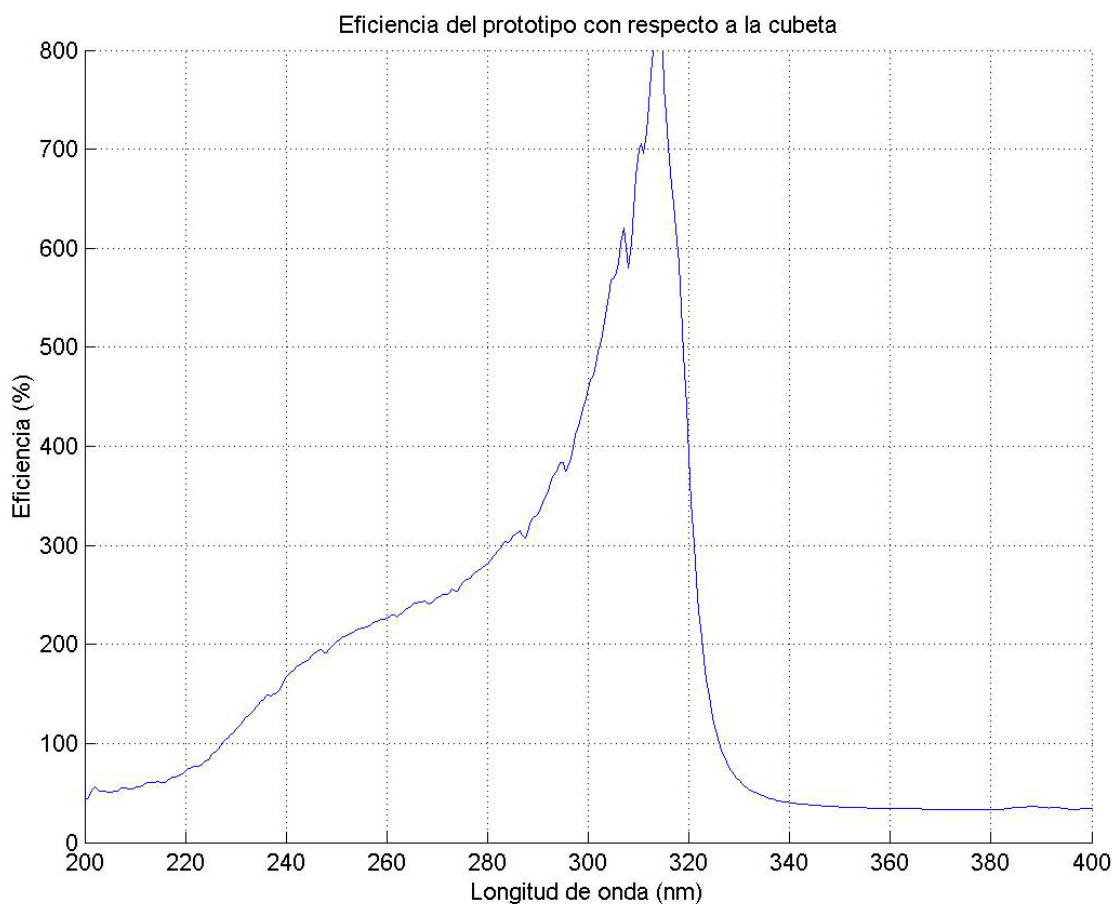


FIGURA 4-37. EFICIENCIA DEL PROTOTIPO CON RESPECTO AL SOPORTE DE CUBETAS.

En todo caso, para comprobar el funcionamiento del prototipo diseñado, se ha medido un nuevo juego de patrones de nitrato. Las medidas se han realizado tomando como blanco una muestra de agua destilada y posteriormente sumergiendo el prototipo en otra disolución con distintos patrones de nitrato. Se han tomado las medidas de los patrones repetidas con intervalos de 1 minuto para comprobar la variabilidad de las mismas.

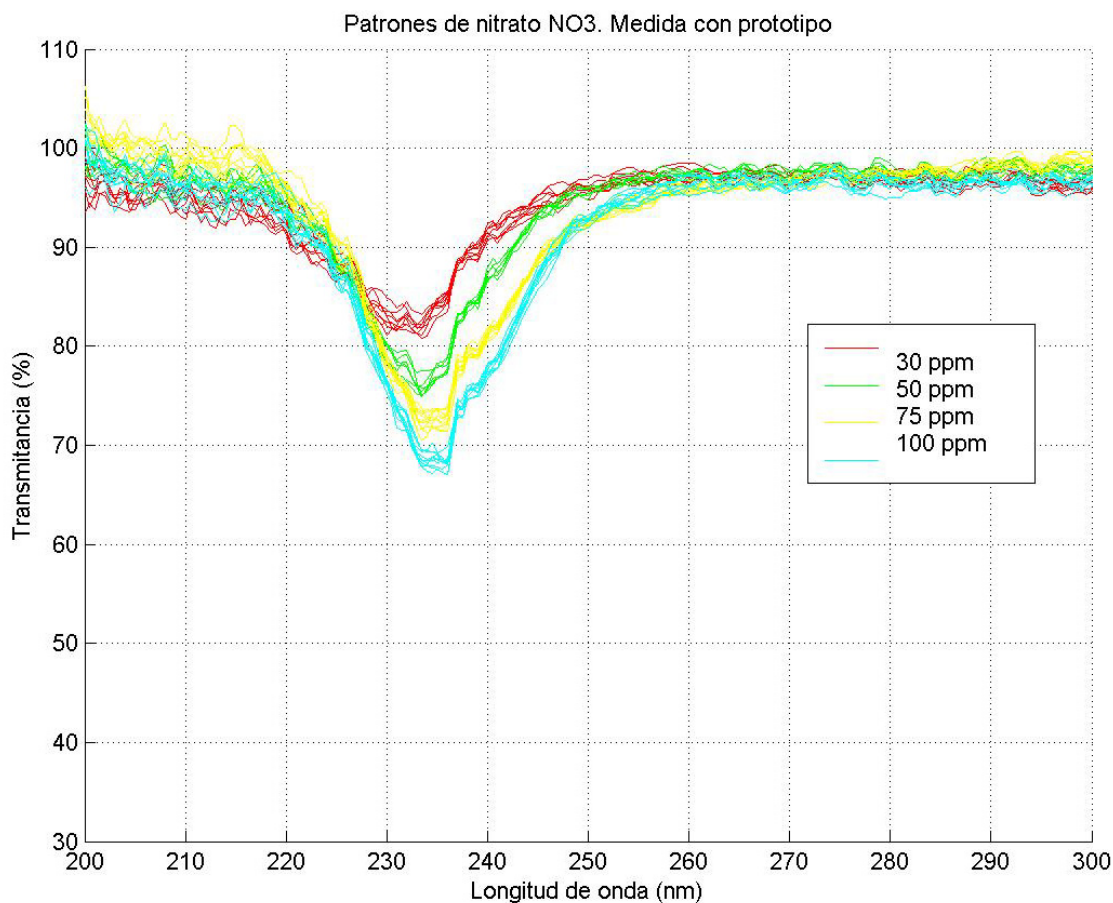


FIGURA 4-38. VARIABILIDAD DE LOS PATRONES DE NITRATO CON EL PROTOTIPO.

Tal y como puede observarse en la Figura 4-38, las medidas muestran una repetibilidad aceptable, manteniéndose el comportamiento de los patrones obtenidos anteriormente con el soporte de cubetas y que han servido de base a este estudio. La variabilidad observada es debida a dos factores, por un lado la reducción del nivel de señal con respecto al fondo de ruido del espectrofotómetro debida al descenso de la eficiencia del prototipo. Por otro lado, se ha observado un envejecimiento de las fuentes de luz empleadas que ha afectado a su nivel de emisión, lo que nuevamente redundará en un empobrecimiento de la relación señal a ruido.

De todo esto se deduce que el prototipo diseñado requiere de un nuevo juego de lentes que mejoren la eficiencia en la zona de sensibilidad del nitrato, para elevar el nivel de relación señal a ruido.

Por otro lado, el envejecimiento de las fuentes indica que el sistema puede tener una deriva temporal importante, por lo que será necesario introducir algún mecanismo de corrección de la misma (por ejemplo monitorizar la emisión de la fuente de manera simultánea a la medida) en diseños futuros.



## **5 CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.**

### **5.1 Conclusiones generales.**

---

Las técnicas de espectrofotometría de absorción en el ultravioleta se han demostrado válidas para la medida directa *in situ* de concentraciones en nitrato en aguas naturales. Según afirma la ley de Beer-Lambert, la concentración resulta proporcional al logaritmo de la concentración. Sin embargo, las medidas realizadas demuestran que los efectos de no linealidad son significativos por encima de aproximadamente 50 mg/l. Las medidas realizadas también han mostrado que la longitud de onda para la cual se produce la absorción máxima de energía no es fija, obteniéndose una relación lineal de la misma con el logaritmo de la concentración. Los análisis realizados han permitido realizar un modelado de la transmitancia siguiendo una combinación de funciones de Fermi y Gaussianas. La función de Fermi corresponde a las longitudes de onda por debajo del máximo de absorción. La función gaussiana corresponde a las longitudes por encima del máximo de absorción.

Debido a la existencia de otros compuestos que interfieren la medida en el ultravioleta, los métodos basados en una o dos longitudes de onda no resultan adecuados para determinar de manera directa la concentración de nitrato. Son más adecuados los métodos basados en múltiples longitudes de onda, los cuales tienen en cuenta la absorción de fondo que compuestos como la materia orgánica, producen en el rango de

longitudes de onda del UV. A pesar de que algunos investigadores han llegado a proponer expresiones relativas a un determinado entorno, resulta más conveniente permitir un ajuste simultáneo durante la deconvolución de los espectros. La programación evolutiva se ha demostrado como una herramienta muy conveniente para realizar esta deconvolución, permitiendo el ajuste simultáneo del analito o analitos y de la absorción de fondo. El modelado de la transmitancia mediante funciones matemáticas ha permitido proponer un método de estimación del valor de la concentración de múltiples contaminantes a partir de la combinación de patrones experimentales y modelados matemáticamente.

El funcionamiento del sistema de medida construido está altamente condicionado por las pérdidas de transmisión de la fibra óptica y por la eficiencia de acoplo entre fibras. Para optimizar su rendimiento deben integrarse en el dispositivo final la fuente y el analizador de espectros con objeto de minimizar la longitud de fibra. Por otra parte, el prototipo diseñado ha permitido comprobar la mejora de la eficiencia con respecto al equipamiento tradicional (soporte de cubetas), aunque las lentes necesitan ser ajustadas. En cuanto a la variabilidad de las medidas y la deriva temporal de las mismas, las pruebas realizadas demuestran buena repetibilidad, así como la necesidad de introducir mecanismos de compensación de la deriva temporal de la emisión de la fuente.

## 5.2 Aportaciones originales de la tesis doctoral

---

Las aportaciones originales de la tesis doctoral son fundamentalmente las siguientes:

- Se ha realizado un modelado matemático de la transmitancia correspondiente a los iones nitrato y nitrito empleando funciones de Fermi y Gaussianas, que permite caracterizar la respuesta espectral de un compuesto a partir de un dato único de concentración.
- Se ha propuesto un método de estimación de la concentración de múltiples contaminantes basado en programación evolutiva clásica que combina los efectos de la absorción de fondo empleando un polinomio de segundo grado, así como las absorciones producidas por múltiples contaminantes, de los cuales pueden disponerse tanto de patrones medidos experimentalmente, como generados a partir de las funciones expresadas anteriormente.
- Se ha construido y patentado un prototipo de sistema óptico de medida *in situ* y en tiempo real que permite la medida directa de la concentración de nitrato en aguas naturales.

### **5.3 Futuras líneas de investigación**

---

En cuanto a las futuras líneas de investigación abiertas a raíz de la realización de esta tesis, pueden destacarse dos vertientes. Por un lado, la optimización del prototipo ya construido que permita mejorar la eficiencia del mismo en las longitudes de onda del ultravioleta, así como la búsqueda de fuentes de luz que posean una mayor intensidad y estabilidad temporal de emisión en esa zona. Igualmente, debe avanzarse en la incorporación de un mecanismo de monitorización del nivel de señal para corregir esta deriva temporal de la fuente, así como en la integración del conjunto de elementos en un único dispositivo.

Por otro lado, el modelado de la transmitancia realizado ha abierto un campo para el modelado de las respuestas que puede seguirse con otros contaminantes, de manera que se dote de mayor eficacia al algoritmo de estimación propuesto. Igualmente, la ampliación de este modelado podrá permitir la realización de simulaciones de medidas espectrofotométricas para mejor comprensión de los fenómenos de absorción e interferencia.



## 6 RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 6.1 Patentes

---

[PT.2] Inventores: Mateos Martín, J.; Bustamante Gutiérrez, I; Alpuente Hermosilla, J.; **López Espí, P. L.**; Sanz González, J. “Sistema de riego distribuido monocompuerta con accionamiento manual o automatizado”. N. de solicitud: P2006-00371. País de prioridad: España. Fecha de prioridad: 17-2-2006.

[PT.1] Inventores: Bustamante Gutiérrez, I.; **López Espí, P. L.**; Alpuente Hermosilla, J.; Pérez Cisneros, J.; Hernández Sánchez, J.; Quintana Pérez, J.; Vera López, S.; Sanz García, J.; López Ferreras, F. “Sistema y Sensor óptico sumergible para la análisis en continuo de la concentración de nitrato en agua”. N. de solicitud: P2006-00428. País de prioridad: España. Fecha de prioridad: 23-2-2006.

### 6.2 Comunicaciones

---

[C. 13] **P. López-Espí**, S. Salcedo-Sanz, A. M. Perez-Bellido, I. de Bustamante and F. López-Ferreras. “Nitrates/nitrites concentration estimation in water samples using transmittance curves models optimized by evolutionary programming”. Hydroinformatics Journal, Enviada.

[C. 12] M. J. Polo-Corpa, S. Salcedo-Sanz, A. M. Perez-Bellido, **P. Lopez-Espí**, R. Benavente and E. Pérez. “Curve Fitting using Heuristics and Bio-inspired Optimization Algorithms for Chemical Data Processing Applications”. *Analytica Chimica Acta*. Enviada.

[C. 11] **P. López-Espí**, S. Salcedo-Sanz, A. M. Perez-Bellido, O. Alonso-Garrido y A. Portilla-Figueras. “Estimating the Concentration of Nitrates in Water Samples using PSO and VNS Approaches”. *Parallel Problem Solving from Nature*. Enviada.

[C.10] Alpuente Hermosilla, J.; **López Espí, P. L.**; De Bustamante Gutiérrez, I. “Sensores ópticos para la medida “in situ” de nitratos en aguas residuales”. VIII Congreso Nacional del Medio Ambiente. CONAMA 8. 2007

[C.9] **López Espí, P. L.**; De Bustamante-Gutiérrez, I.; Salcedo-Sanz, S.; Alpuente-Hermosilla, J. “Evolutionary Programming for Estimating Nitrate Concentration in Water”. *WSEAS Transactions on Environment and Development* ISSN: 1790-5079. Vol. 10, Nº. 2, pp. 1345-1348. 2006.

[C.8] **P. L. López**; S. Salcedo; I. de Bustamante; J. Alpuente. “Estimación de la concentración de nitratos en filtros verdes mediante algoritmos evolutivos”. Congreso CEDI 2005. Libro de Actas del IV Congreso Español sobre Metaheurísticas, Algoritmos Evolutivos y Bioinspirados. Pp.515-519.

[C.7] De Bustamante, I; Vera, S.; Sanz, J.; Alpuente, J.; Mateos, J.; León, V.; **López, P.**; Corvea, J.; Larrañaga, J. “Tecnología de depuración de aguas residuales mediante

filtros verdes: Diseño, funcionamiento, evolución y control de la contaminación de las aguas subterráneas”. Encuentro Internacional en Fitodepuración. Libro de Actas. Pp.244-253. Lorca. 2005

[C.6] Jesús Alpuente; **Pablo López**; Irene de Bustamante; Juana Sanz; Jesús Sánchez. “Filtros Verdes Autogestionados: Una Solución Ambientalmente correcta para la depuración de Aguas Residuales Urbanas en el Medio Rural”. V Congreso Nacional del Agua y el Medio Ambiente. Zaragoza. 2002.

[C.5] Alpuente, J.; De Bustamante, I.; Echegaray, M.; **López Espí, P.L.**; López Ferreras, F.; Sanz, J.; Sánchez, J. “A New System for Self Management of Filtros Verdes”. Congreso Internacional de Tecnologías de Pequeña Escala para la Depuración y Gestión de Aguas Residuales en el Ámbito Mediterráneo. Sevilla. 2002.

[C.4] **López Espí, P. L.**; Sánchez, J.; Sanz, J.; Alpuente, J.; De Bustamante, I.; López Ferreras, F. “Aplicación de tecnologías limpias en riegos con aguas residuales: Distribución Automatizada y Reutilización”. Avances en Calidad Ambiental. ISBN: 84-7800-811-X. Pp. 381-385. 2002. Ediciones Universidad de Salamanca.

[C.3] De Bustamante, I.; Dorado, M.; **López Espí, P. L.**; Alpuente Hermosilla, J.; Sanz, J.; Vera, S.; Mateos, J. “New Information Technologies Applied to “Filtros Verdes” Management”. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference on Future Groundwater Resources at Risk FGR’01. ISBN: 972-977-11-3-8. pp. 585-588. 2001. Ed. CVR/IST.

[C.2] Sanz, J. M.; **López Espí, P.**; Alpuente, J.; Roquero, E.; De Bustamante, I. “Filtros verdes, una aplicación ambiental para el uso sostenible de las aguas residuales”. Simposio de la Asociación Española de Ecología Terrestre. Restauración de ecosistemas en ambientes mediterráneos. Posibilidades y limitaciones. Simposio de la Asociación Española de Ecología Terrestre . Alcalá de Henares. 2001.

[C.1] De Bustamante, I.; Alpuente, J.; Sanz García, J.; **López-Espí, P. L.**; Dorado-Valiño, M.; López-Ferreras, F.; Roquero, E. “Nueva metodología de diseño, control y gestión de filtros verdes. Aplicación a sistemas en funcionamiento”. Hidrogeología y Recursos Hidráulicos. Deposito Legal: M-22344-2001. pp 585-594. 2001. Ed. Asociación Española de Hidrogeólogos.

### **6.3 Participación en proyectos de I+D**

---

[PY.8] “Regeneración de aguas mediante técnicas pasivas in situ: reutilización para riego y recarga”. Ministerio de Educación y Ciencia CGL2007-65712-C03-01/HID.2007. Financiación puente 6.000,00 €. I. P. Irene De Bustamante.

[PY.7] “Tratamiento y Reutilización de Aguas Residuales para una Gestión Sostenible”. Ministerio de Educación y Ciencia (Programa CONSOLIDER INGENIO 2010 CE-CSD-2006-00044). 2006-2011. Financiación 4.909.000,00 €. Coordinador del Programa Eloy García Calvo.

[PY.6] “Control de la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos: Desarrollo de un prototipo de sonda con métodos ópticos para su determinación en continuo”. CAM-UAH 2005/025. Ene- 2006-Dic 2006. Financiación 12.000,00 €. I. P. Irene de Bustamante.

[PY.5] “Desarrollo de instrumentación y sistemas para el seguimiento y control remotos de la calidad de las aguas subterráneas: aplicación en la depuración y reutilización de aguas residuales mediante filtros verdes”. CICYT REN2003-01248/HID. 2003-2006. Financiación 114.720,00 €. I. P. Irene de Bustamante

[PY.4] Seguimiento de la contaminación en el vertedero clausurado de San Sebastián de los Reyes. ART. 11 LRU. Técnicas de Protección Ambiental S. A. 2002-2003 I. P. Irene de Bustamante y Jesús Alpuente. Financiación 6.844,00 €

[PY.3] “Filtros Verdes: Diseño de sensores para la monitorización in situ de parámetros de control contaminantes”. Comunidad de Madrid. Ene-2001-Dic-2001. Financiación 10.812,21 €. I. P. M<sup>a</sup> Soledad Vera López.

[PY.2] “Aplicación de nuevas tecnologías de la información y comunicaciones en la implantación y gestión de Filtros Verdes (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña)” Fundación La Caixa. 2001-2003. Financiación 9.015,18 €. I. P. Irene de Bustamante.

[PY.1] “Implantación y gestión de filtros verdes: una alternativa para la depuración y reutilización de aguas residuales (creación de una planta experimental en el filtro verde

de Redueña)". CICYT REN2000-0759-C02-01. 2001-2003. Financiación: 96.266,27 €  
I. P. Irene de Bustamante (subproyecto 1 y coordinadora)/ y Francisco. López Ferreras  
(subproyecto 2)

## 7 REFERENCIAS

- [1] D.O.C.E., "Directiva del consejo 91/271/CEE, de 21 de mayo sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas," *DO L 135 de 30.5.1991*, p. 40/52 1991, pp. 40-52.
- [2] D.O.C.E., "Directiva del consejo 91/676/CEE de 12 de diciembre de 1991 relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en agricultura.," *DOCE* 1991, pp. 1-8.
- [3] B.O.E., "Real Decreto-Ley 11/1995 de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas.," *B.O.E.*, 30 de diciembre de 1995, n° 312 1995, pp. 37517-37519.
- [4] B.O.E., "Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas.," *B.O.E. n. 77 de 29/3/1996* 1996, pp. 12038-12041.
- [5] España, "Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias.," *B.O.E.* 1996, pp. 9734-9737.
- [6] B.O.E., "Real Decreto 2116/1998, de 2 de octubre, por el que se modifica el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas.," *B.O.E. n. 251 de 20/10/1998* 1998, pp. 34635-34636.
- [7] "Directiva 2000/60/CE de 23 de octubre de 2000 por la que se establece el marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.," *DOCE* 2006, pp. 1-72.
- [8] B.O.E., "Ley 62/2003, de 30 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y del orden social.," *B.O.E. n. 313 de 31/12/2003* 2003, pp. 46874-46992.
- [9] B.O.E., "Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas.," *B.O.E. n. 176 de 24/7/2001* 2001, pp. 26791-26817.

- [10] B.O.E., "Real Decreto 907/2007, de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica.," *B.O.E. n. 162 de 7/7/2007* 2007, pp. 29361-29398.
- [11] UE, "Directiva 2006/118/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de diciembre de 2006 relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro.," *Diario Oficial de la Unión Europea* 2006, pp. 19-31.
- [12] B.O.E., "Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.," *B.O.E. n. 294 de 8/12/2007* 2007, pp. 50639-50661.
- [13] I. De Bustamante (I. P.). Implantación y gestión de filtros verdes: una alternativa para la depuración y reutilización de aguas residuales (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña) REN200-0759-C02-01. Informe de proyecto CICYT. 2000.
- [14] F. López Ferreras (I. P.). Implantación y gestión de filtros verdes: una alternativa para la depuración y reutilización de aguas residuales (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña) REN200-0759-C02-01. Informe de Proyecto CICYT. 2000.
- [15] Saucedo, D., Sammis, T. W., Picchioni, G. A., and Mexal, J. G., "Wastewater application and water use of *Larrea tridentata*," *Agricultural Water Management*, vol. 82, no. 3, pp. 343-353, Apr.2006.
- [16] López-Espí, P. L., Sánchez, J., Sanz, J., Alpuente, J., De Bustamante, I., and López-Ferreras, F. Aplicación de tecnologías limpias en riegos con aguas residuales: distribución automatizada y reutilización. *Avances en Calidad Ambiental*, 381-386. 2002. Salamanca.
- [17] De Bustamante, I., Dorado, M., Vera, S., and Oliveros, C., "Filtros Verdes. Un sistema para la depuración y reutilización de aguas residuales," *Tecnoambiente*, vol. 79 pp. 73-75, 1998.
- [18] Metcalf, R. and Eddy, J., *Ingeniería sanitaria. Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales*, 2 ed. Barcelona: Ed. Labor, 1985.
- [19] Nicolas Isasa, J. and Fernández Casals, M. J. Experiencias de filtros verdes en Madrid y Castilla-La Mancha. II Congr. Nac. Recuperación de recursos de los residuos. 1984. Soria.
- [20] Sanz-García, J., Lopez-Espi, P. L., Alpuente-Hermosilla, J., Roquero-Garcia, E., and De Bustamante Gutiérrez, I. Filtros Verdes, una aplicación ambiental para el



- uso sostenible de las aguas residuales. Restauración de ecosistemas en ambientes mediterráneos. Posibilidades y limitaciones, 78. 2001. Alcalá de Henares.
- [21] Alpuente, J., López-Espí, P., De Bustamante, I., Sanz, J., and Sánchez, J. Filtros Verdes autogestionados: una solución ambientalmente correcta para la depuración de aguas residuales urbanas en el medio rural. CONAMA 2002. V Congreso nacional del agua y el medio ambiente, 11-14. 2002. Zaragoza.
  - [22] De Bustamante, I., Alpuente, J., Sanz García, J., López-Espí, P. L., Dorado, M., López Ferreras, F., and Roquero, E., "Nueva metodología de diseño, control y gestión de Filtros Verdes. Aplicación a sistemas en funcionamiento.," *Hidrogeología y Recursos Hidráulicos*, vol. 24 pp. 585-594, 2001.
  - [23] Muñoz-Aulet, J. and Caus-Pla, J. M. Maximización del beneficio ambiental en la explotación de una EDAR de una zona turística costera. 2005. Lloret de Mar (Gerona). Jornadas Técnicas: La integración del agua regenerada en la gestión de los recursos.
  - [24] Rosenqvist, H., Aronsson, P., Hasselgren, K., and Perttu, K., "Economics of using municipal wastewater irrigation of willow coppice crops," *Biomass & Bioenergy*, vol. 12, no. 1, pp. 1-8, 1997.
  - [25] Rosenqvist, H. and Dawson, M., "Economics of using wastewater irrigation of willow in Northern Ireland," *Biomass & Bioenergy*, vol. 29, no. 2, pp. 83-92, 2005.
  - [26] Al Jamal, M. S., Sammis, T. W., Mexal, J. G., Picchioni, G. A., and Zachritz, W. H., "A growth-irrigation scheduling model for wastewater use in forest production," *Agricultural Water Management*, vol. 56, no. 1, pp. 57-79, July 2002.
  - [27] De Bustamante, I., Vera, S., Sanz, J. M., Alpuente, J., Mateos, J., Leon, V., López-Espí, P. L., Corvea, J. L., and Larrañaga, J. Tecnologías de depuración de aguas residuales mediante Filtros Verdes: diseño, funcionamiento, evolución y control, de la contaminación de las aguas subterráneas. Libro de actas del Encuentro Internacional en Fitodepuración, 244-253. 2005. Lorca.
  - [28] De Bustamante, I., Dorado, M., López-Espí, P. L., Alpuente, J., Sanz, J. M., Vera, S., and Mateos, J. New Information Technologies applied to Filtros Verdes management. Future Groundwater resources at risk, 585-588. 2001. Lisboa.
  - [29] Mateos Martín, J., De Bustamante Gutitérriz, I., Alpuente Hermosilla, J., López Espí, P. L., and Sanz González, J. Sistema de riego distribuido monocompuerta con accionamiento manual o automatizado. [P2006-00371]. 2006. España.

- [30] I. De Bustamante (I. P.). Aplicación de nuevas tecnologías de la información y comunicaciones en la implantación y gestión de Filtros Verdes (creación de una planta experimental en el filtro verde de Redueña). Informe de proyecto Fundación La Caixa. 2001.
- [31] S. Vera López (I. P.). Filtros verdes: diseño de sensores para la monitorización in situ de parámetros de control contaminantes 07M/0061/2001. Informe de proyecto Comunidad de Madrid. 2007.
- [32] I. De Bustamante (I. P.). Desarrollo de instrumentación y sistemas para el seguimiento y control remotos de la calidad de las aguas subterráneas: aplicación en la depuración y reutilización de aguas residuales mediante filtros verdes REN2003-01248/HID. Informe de proyecto MCYT. 2003.
- [33] I. De Bustamante (I. P.). Control de la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos: Desarrollo de un prototipo de sonda con métodos ópticos para su determinación en continuo CAM-UAH 2005/025. Informe de proyecto CAM-UAH. 2005.
- [34] E. García Calvo (I. P.). Tratamiento y Reutilización de Aguas Residuales para una Gestión Sostenible . Proyecto CONSOLIDER CE-CSD-2006-00044. 2006.
- [35] De Bustamante, I. I. P. Regeneración de aguas mediante técnicas pasivas in situ: reutilización para riego y recarga. Proyecto de investigación CGL2007-65712-C03-01/HID. 2007.
- [36] Natureduca. El ciclo del nitrógeno. <http://natureduca.com> 2006.
- [37] Porta, J., López-Acevedo, M., and Roquero, C., *Edafología para la acuicultura y el medio ambiente*, 3ª ed. Madrid: MUNDI PRENSA LIBROS S.A, 1994, pp. 753-755.
- [38] Lentech. Ciclo del nitrógeno. <http://www.lentech.com> 2006.
- [39] Universidad de Navarra. Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente. 2006.
- [40] Vitousek, P. M., Aber, J. D., Howarth, R. W., Likens, G. E., Matson, P. A., Schindler, D. W., Schlesinger, W. H., and Tilman, D. G., "Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences" *Ecological Applications*, vol. 7, no. 3, pp. 737-750, Aug.1997.
- [41] Widory, D., Kloppmann, W., Chery, L., Bonnin, J., Rochdi, H., and Guinamant, J. L., "Nitrate in groundwater: an isotopic multi-tracer approach," *Journal of Contaminant Hydrology*, vol. 72, no. 1-4, pp. 165-188, Aug.2004.

- [42] Hudak, P. F., "Regional trends in nitrate content of Texas groundwater," *Journal of Hydrology*, vol. 228, no. 1-2, pp. 37-47, Feb.2000.
- [43] B. Oram. Nitrates and Nitrites in Drinking Water. 2006.
- [44] Girard, P. and HillaireMarcel, C., "Determining the source of nitrate pollution in the Niger discontinuous aquifers using the natural N-15/N-14 ratios," *Journal of Hydrology*, vol. 199, no. 3-4, pp. 239-251, Dec.1997.
- [45] Almasri, M. N. and Kaluarachchi, J. J., "Assessment and management of long-term nitrate pollution of ground water in agriculture-dominated watersheds," *Journal of Hydrology*, vol. 295, no. 1-4, pp. 225-245, Aug.2004.
- [46] Sonneveld, M. P. W. and Bouma, J., "Methodological considerations for nitrogen policies in the Netherlands including a new role for research," *Environmental Science & Policy*, vol. 6, no. 6, pp. 501-511, 2003.
- [47] Callesen, I., Raulund-Rasmussen, K., Gundersen, P., and Stryhn, H., "Nitrate concentrations in soil solutions below Danish forests," *Forest Ecology and Management*, vol. 114, no. 1, pp. 71-82, Feb.1999.
- [48] Bhumbra, D. K. Agriculture Practices and Nitrate Pollution of Water. West Virginia University.Extension Service. 2007.
- [49] Diez, J. A., Roman, R., Caballero, R., and Caballero, A., "Nitrate leaching from soils under a maize-wheat-maize sequence, two irrigation schedules and three types of fertilisers," *Agriculture Ecosystems & Environment*, vol. 65, no. 3, pp. 189-199, Nov.1997.
- [50] Sogbedji, J. M., van Es, H. M., Klausner, S. D., Bouldin, D. R., and Cox, W. J., "Spatial and temporal processes affecting nitrogen availability at the landscape scale," *Soil & Tillage Research*, vol. 58 pp. 233-244, 2006.
- [51] Hu, K. L., Huang, Y. F., Li, H., Li, B. G., Chen, D. L., and White, R. E., "Spatial variability of shallow groundwater level, electrical conductivity and nitrate concentration, and risk assessment of nitrate contamination in North China Plain," *Environment International*, vol. 31, no. 6, pp. 896-903, Aug.2005.
- [52] WHO Collaborative Council Workgroup on Sanitation. Sanitation promotion (Report of WSSCC Working Group on Promotion of Sanitation). 1998.
- [53] Coppola, A., Santini, A., Botti, P., Vacca, S., Comegna, V., and Severino, G., "Methodological approach for evaluating the response of soil hydrological behaviour to irrigation with treated municipal wastewater," *Journal of Hydrology*, vol. 292 pp. 114-134, 2004.

- [54] Angelakis, A. N., Marecos-do-Monte, M. H. F., Bontoux, L., and Asano, T., "The status of wastewater reuse practice in the mediterranean basin: need for guidelines," *Water Resources*, vol. 33, no. 10, pp. 2201-2217, 1999.
- [55] Papaiaçovou, I., "Case study-Wastewater reuse in Limassol as an alternative water source," *Desalination*, vol. 138 pp. 55-59, 2001.
- [56] Niemczynowicz, J., "Urban Hydrology and water management - present and future challenges," *Urban Water*, vol. 1 pp. 1-14, 1999.
- [57] Chen, J. Y., Tang, C. Y., and Yu, J. J., "Use of O-18, H-2 and N-15 to identify nitrate contamination of groundwater in a wastewater irrigated field near the city of Shijiazhuang, China" *Journal of Hydrology*, vol. 326, no. 1-4, pp. 367-378, July2006.
- [58] Kass, A., Gavrieli, I., Yechieli, Y., Vengosh, A., and Starinsky, A., "The impact of freshwater and wastewater irrigation on the chemistry of shallow groundwater: a case study from the Israeli Coastal Aquifer" *Journal of Hydrology*, vol. 300, no. 1-4, pp. 314-331, Jan.2005.
- [59] Williams, T. M., "Nitrate leaching from intensive fiber production on abandoned agricultural land" *Forest Ecology and Management*, vol. 122, no. 1-2, pp. 41-49, Sept.1999.
- [60] Mohamed, M. A. A., Terao, H., Suzuki, R., Babiker, I. S., Ohta, K., Kaori, K., and Kato, K., "Natural denitrification in the Kakamigahara groundwater basin, Gifu prefecture, central Japan," *Science of the Total Environment*, vol. 307, no. 1-3, pp. 191-201, May2003.
- [61] Vinten, A. J. A. and Dunn, S. M., "Assessing the effects of land use on temporal change in well water quality in a designated nitrate vulnerable zone," *Science of the Total Environment*, vol. 265, no. 1-3, pp. 253-268, Jan.2001.
- [62] Perez, J. M. S., Antigüedad, I., Arrate, I., Garcia-Linares, C., and Morell, I., "The influence of nitrate leaching through unsaturated soil on groundwater pollution in an agricultural area of the Basque country: a case study," *Science of the Total Environment*, vol. 317, no. 1-3, pp. 173-187, Dec.2003.
- [63] Maitre, V., Cosandey, A. C., Desagher, E., and Parriaux, A., "Effectiveness of groundwater nitrate removal in a river riparian area: the importance of hydrogeological conditions" *Journal of Hydrology*, vol. 278, no. 1-4, pp. 76-93, July2003.
- [64] Dolezal, F. and Kvitek, T., "The role of recharge zones, discharge zones, springs and tile drainage systems in peneplains of Central European highlands with

- regard to water quality generation processes" *Physics and Chemistry of the Earth*, vol. 29, no. 11-12, pp. 775-785, 2004.
- [65] M.Herranz and N.Clerigué, "Intoxicación en niños. Metahemoglobinemia," *Anales Sis.Sa.Navarra*, vol. 26 (Sup.1) pp. 209-223, 2003.
- [66] Daub, K., Emig, G., Choiller, M. J., Callant, M., and Dittemyer, R., "Studies on the use of catalytic membranes for reduction of nitrate in drinking water," *Chemical Engineering Science*, vol. 54 pp. 1577-1582, 1999.
- [67] Luk, G. K. and Au-Yeung, W. C., "Experimental investigation on the chemical reduction of nitrate from groundwater," *Advances in Environmental Research*, vol. 6 pp. 441-453, 2002.
- [68] Bohdziewicz, J., Bodzek, M., and Wasik, E., "The application of reverse osmosis and nanofiltration to the removal of nitrates from groundwater.," *Desalination*, vol. 121 pp. 139-147, 1999.
- [69] Leakovic, S., Mijatovic, I., Cerjan-Stefanovic, S., and Hodzic, E., "Nitrogen removal from fertilizer wastewater by ion exchange," *Water Resources*, vol. 34, no. 1, pp. 185-190, 2000.
- [70] Kesore, K., Janowski, F., and Shaposhnik, V. A., "Higly effective electrodialysis for selective elimination of nitrates from drinking water.," *Journal of Membrane Science*, vol. 127 pp. 17-24, 1997.
- [71] Capra, A. and Scicolone, B., "Emitter and filter test for water reuse by drip irrigation," *Agricultural Water Management*, 2004.
- [72] Berndt, H., Monnich, I., Lücke, B., and Menzel, M., "Tin promoted palladium catalysis for nitrate removal from drinking water," *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 30 pp. 111-122, 2001.
- [73] Pintar, A. and Batista, J., "Catalytic hidrogenation of aqueous nitrate solutions in fixed-bed reactors," *Catalysis Today*, vol. 53 pp. 35-50, 1999.
- [74] Mizuta, K., Matsumoto, T., Hatate, Y., Nishihara, K., and Nakanishi, T., "Removal of nitrate-nitrogen from drinking water using bamboo powder charcoal," *Bioresource Technology*, vol. 95 pp. 255-257, 2004.
- [75] Pintar, A., "Catalytic processes for the purification of drinking water and industrial effuents," *Catalysis Today*, vol. 77 pp. 451-465, 2003.
- [76] Bems, B., Jentoft, F. C., and Schölgl, R., "Photoinduced decomposition of nitrate in drinking water in the presence of titania and humic acids," *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 20 pp. 155-163, 1999.

- [77] Chen, Y. X., Zhang, Y., and Chen, G. H., "Appropriate conditions or maximizing catalytic reduction efficiency of nitrate into nitrogen gas in groundwater," *Water Research*, vol. 37 pp. 2489-2495, 2003.
- [78] Ruiz-Bevia, F., "Assessment of the catalytic reduction of nitrates in water from an environmental point of view," *Journal of Catalysis*, vol. 227, no. 2, pp. 563-565, Oct.2004.
- [79] Palomares, A. E., Prato, J. G., Rey, F., and Corma, A., "Using the "memory effect" of hydrotalcites for improving the catalytic reduction of nitrates in water," *Journal of Catalysis*, vol. 221, no. 1, pp. 62-66, Jan.2004.
- [80] Mobley, C. D., "The optical properties of water," in Bass, M. (ed.) *Handbook of optics* 2 ed. McGraw Hill, 1995, pp. 43.3-43.55.
- [81] Bannister, T. T., "Estimation of Absorption-Coefficients of Scattering Suspensions Using Opal Glass" *Limnology and Oceanography*, vol. 33, no. 4, pp. 607-615, July1988.
- [82] Kirk, J. T. O., *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems* New York: Cambridge University Press, 1983, pp. -410.
- [83] Jerlov, N. G., *Marine Optics* Amsterdam: Elsevier, 1976, pp. -231.
- [84] Holm, T., Kelly, W., Sievers, L., and Webb, D., "A comparison of ultraviolet spectrophotometry with other methods for the determination of nitrate in water" *Spectroscopy*, vol. 12, no. 9, pp. 38-&, Nov.1997.
- [85] Gross, A., Boyd, C. E., and Seo, J. W., "Evaluation of the ultraviolet spectrophotometric method for the measurement of total nitrogen in water" *Journal of the World Aquaculture Society*, vol. 30, no. 3, pp. 388-393, Sept.1999.
- [86] APHA, AWWA, and WCPF, *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*, 17 ed. Díaz de Santos, 1992, pp. -1715.
- [87] Karlsson, M., Karlberg, B., and Olsson, R. J. O., "Determination of Nitrate in Municipal Waste-Water by Uv Spectroscopy" *Analytica Chimica Acta*, vol. 312, no. 1, pp. 107-113, Aug.1995.
- [88] Beemster, B. J. and Kahle, S. J. On-Line Analysis of nitrate and iron in drinking water. AWWA 93. 1993. San Antonio (Texas).
- [89] Beemster, J. B. and Kahle, S. J. On-Line Analysis of nitrate and nitrite in wastewater without the use of reagents through multiple wavelength absorbance spectrometry. 1995.

- [90] Johnson, K. S. and Coletti, L. J., "In situ ultraviolet spectrophotometry for high resolution and long-term monitoring of nitrate, bromide and bisulfide in the ocean" *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, vol. 49, no. 7, pp. 1291-1305, July 2002.
- [91] Langergraber, G., Fleischmann, N., Hofstaedter, F., and Weingartner, A., "Monitoring of a paper mill wastewater treatment plant using UV/VIS spectroscopy" *Water Science and Technology*, vol. 49, no. 1, pp. 9-14, 2004.
- [92] Coulomb, B., Richardson, Y., Brach-Papa, C., Boudenne, J. L., and Theraulaz, F., "Rapid estimation of TOC in a marine urban sewage area by UV spectral deconvolution" *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, vol. 86, no. 14, pp. 1079-1093, Dec. 2006.
- [93] Rennie, P. J., Sumner, A. M., and Basketter, F. B., "Determination of Nitrate in Raw, Potable and Waste-Waters by Ultraviolet Spectrophotometry" *Analyst*, vol. 104, no. 1242, pp. 837-845, 1979.
- [94] Thompson, K. C. and Blankley, M., "Automatic Continuous-Flow Determination of Nitrate in Raw and Potable Waters, Rivers and Sewage Effluents by Ultraviolet-Absorption Spectrometry" *Analyst*, vol. 109, no. 8, pp. 1053-1056, 1984.
- [95] Thomas, O. and Gallot, S., "Ultraviolet Multiwavelength Absorptiometry (Uvma) for the Examination of Natural-Waters and Wastewaters .1. General-Considerations" *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 338, no. 3, pp. 234-237, 1990.
- [96] Thomas, O., Gallot, S., and Mazas, N., "Ultraviolet Multiwavelength Absorptiometry (Uvma) for the Examination of Natural-Waters and Wastewaters .2. Determination of Nitrate" *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 338, no. 3, pp. 238-240, 1990.
- [97] Suzuki, N. and Kuroda, R., "Direct Simultaneous Determination of Nitrate and Nitrite by Ultraviolet 2Nd-Derivative Spectrophotometry" *Analyst*, vol. 112, no. 7, pp. 1077-1079, July 1987.
- [98] Simal, J., Lage, M. A., and Iglesias, I., "2Nd Derivative Ultraviolet Spectroscopy and Sulfamic Acid Method for Determination of Nitrates in Water" *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, vol. 68, no. 5, pp. 962-964, 1985.
- [99] Finch, M. S., Hydes, D. J., Clayson, C. H., Weigl, B., Dakin, J., and Gwilliam, P., "A low power ultra violet spectrophotometer for measurement of nitrate in

- seawater: introduction, calibration and initial sea trials" *Analytica Chimica Acta*, vol. 377, no. 2-3, pp. 167-177, Dec.1998.
- [100] Armstrong, F. A. J., "Determination of Nitrate in Water by Ultraviolet Spectrophotometry" *Analytical Chemistry*, vol. 35, no. 9, pp. 1292-&, 1963.
- [101] Ogura, N. and Hanya, T., "Nature of Ultra-Violet Absorption of Sea Water" *Nature*, vol. 212, no. 5063, pp. 758-&, 1966.
- [102] Guenther, E. A., Johnson, K. S., and Coale, K. H., "Direct ultraviolet spectrophotometric determination of total sulfide and iodide in natural waters" *Analytical Chemistry*, vol. 73, no. 14, pp. 3481-3487, July2001.
- [103] Bricaud, A., Morel, A., and Prieur, L., "Absorption by Dissolved Organic-Matter of the Sea (Yellow Substance) in the Uv and Visible Domains" *Limnology and Oceanography*, vol. 26, no. 1, pp. 43-53, 1981.
- [104] Huber, E. and Frost, M., "Light scattering by small particles" *Journal of Water Services Research and Technology-Aqua*, vol. 47, no. 2, pp. 87-94, Apr.1998.
- [105] Eiben, A. E. and Schoenauer, M., "Evolutionary computing," *Information Processing Letters*, vol. 82, no. 1, pp. 1-6, Apr.2002.
- [106] Goldberg, D. E., *Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning* Addison-Wesley, 1989.
- [107] Fogel, D. B., "Evolving Artificial Intelligence." Universidad de California, 1992.
- [108] Fogel, D. B., *Evolutionary computation: Toward a new philosophy of machine intelligence* Piscataway, NJ: IEEE Press, 1995.
- [109] Bäck, T. and Schwefel, H. P. An overview of evolutionary algorithms for parameter optimization. *Evol. Comput.* 1[1], 1-23. 1993.
- [110] Fogel, D. B., "An Introduction to Simulated Evolutionary Optimization" *Ieee Transactions on Neural Networks*, vol. 5, no. 1, pp. 3-14, Jan.1994.
- [111] B.O.E., "Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.," *B.O.E. n. 45 de 21/2/2003* 2003, pp. 7228-7245.
- [112] D.O.C.E., "Directiva 98/83/CE del Consejo de 3 de noviembre de 1998 relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano," *DO L 330 de 5.12.1998, p. 32/54* 1998, pp. 32-54.



- [113] López Espí, P. L., Salcedo Sanz, S., Alpuente Hermosilla, J., and De Bustamante Gutiérrez, I. Estimación de la concentración de nitratos en filtros verdes mediante algoritmos evolutivos. Libro de Actas del IV Congreso Español sobre Metaheurísticas, Algoritmos Evolutivos y Bioinspirados, 515-519. 2005. Granada, Thompson.
- [114] López Espí, P. L., De Bustamante Gutiérrez, I., Salcedo Sanz, S., and Alpuente Hermosilla, J., "Evolutionary Programming for Estimating Nitrate Concentration in Water," *WSEAS Transactions on Environment and Development*, vol. 10, no. 2, pp. 1345-1348, 2006.



